

Aus dem Walther-Straub-Institut für Pharmakologie und Toxikologie der
Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Wolfgang Forth

**UNTERSUCHUNGEN ZUR CHINIDIN-DIGOXIN-WECHSELWIRKUNG
AM MEERSCHWEINCHEN**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Michael Hofmann
aus
München

1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:

Mitberichterstatter:

Dekan:

Priv. Doz. Dr. B. Fichtl

Prof. Dr. W. Forth

Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung:

30.5.1986

INHALT

A. VORWORT

B. EINLEITUNG UND ALLGEMEINE BEMERKUNGEN

1. Die Bedeutung der Gewidmeten

1.1. Begründung

1.2. Methodische und didaktische Überlegungen

1.3. Bezug auf die Lehrpläne

1.4. Die Lernenden und die Lernsituation

1.5. Fachspezifische Überlegungen

1.6. Ziele und Lernergebnisse

1.7. Lernaktivitäten und Lernmaterialien

1.8. Bewertung

1.9. Reflexion und Weiterentwicklung

1.10. Zusammenfassung

1.11. Literaturverzeichnis

1.12. Anhang

2. Die Gewidmeten

2.1. Die Gewidmeten im Überblick

2.2. Die Gewidmeten im Detail

2.3. Die Gewidmeten im Vergleich

2.4. Die Gewidmeten im Kontext

2.5. Die Gewidmeten im Zusammenhang mit der Lernsituation

2.6. Die Gewidmeten im Zusammenhang mit den Lernaktivitäten

2.7. Die Gewidmeten im Zusammenhang mit den Lernmaterialien

2.8. Die Gewidmeten im Zusammenhang mit der Bewertung

2.9. Die Gewidmeten im Zusammenhang mit der Reflexion und Weiterentwicklung

2.10. Die Gewidmeten im Zusammenhang mit der Literatur

2.11. Die Gewidmeten im Zusammenhang mit dem Anhang

2.12. Die Gewidmeten im Zusammenhang mit der Zusammenfassung

2.13. Die Gewidmeten im Zusammenhang mit der Bibliographie

2.14. Die Gewidmeten im Zusammenhang mit dem Anhang

2.15. Die Gewidmeten im Zusammenhang mit der Zusammenfassung

2.16. Die Gewidmeten im Zusammenhang mit der Bibliographie

2.17. Die Gewidmeten im Zusammenhang mit dem Anhang

STRUPPI GEWIDMET

INHALT

A.	EINLEITUNG	1
B.	MATERIAL UND METHODEN	4
I.	Versuche mit dem Langendorffherz	4
I.1.	Versuchstiere	4
I.2.	Medikamente und Chemikalien	4
I.3.	Prinzip der Langendorffschen Versuchsanordnung	4
I.4.	Der Langendorffapparat	5
I.5.	Versuchsablauf	7
I.6.	Digoxin- und Chinidinbestimmung	8
II.	In-vivo-Langzeitversuch	9
II.1.	Versuchstiere	9
II.2.	Medikamente und Chemikalien	9
II.3.	Versuchsablauf	9
II.4.	Digoxin- und Chinidinbestimmung	10
II.5.	Rechnerische Auswertung	11
C.	ERGEBNISSE	12
I.	Versuche mit dem Langendorffherz	12
I.1.	Digoxinaufnahme	12
I.2.	Chinidinaufnahme	13
I.3.	Zusammenhang zwischen Chinidinkonzentration im Gewebe und Digoxinaufnahme	14
II.	In-vivo-Langzeitversuch	15
II.1.	Digoxin-, ^3H - und Chinidinkonzentration im Serum	15
II.2.	^3H -Aufnahme verschiedener Gewebe	16
II.3.	Zusammenhang zwischen den Serumkonzentrationen von Chinidin, Digoxin und ^3H -Aktivität	17
II.4.	Digoxin-Metabolite im Serum	18
II.5.	Zusammenhang zwischen der Serumkonzentration von Chinidin, Digoxin, bzw. ^3H -Aktivität und der ^3H -Aufnahme verschiedener Gewebe	20

D.	DISKUSSION DER METHODIK	24
I.	Versuche mit dem Langendorffherz	24
I.1.	Kalziumkonzentration des K-H-Puffers	24
I.2.	Mikrofilter	25
I.3.	Perfusionsdauer	25
I.4.	Perfusionsrate	26
I.5.	Temperatur	26
II.	In-vivo-Langzeitversuch	27
II.1.	Applikation, Zeitpunkt der Bestimmung und Dosis der Medikamente	27
II.2.	G/S-Wert als Maßstab für die Digoxinaufnahme im Gewebe	27
II.3.	Chronische Medikation	30
E.	DISKUSSION DER ERGEBNISSE	31
I.	Geschlechtsspezifische Unterschiede der Digoxinaufnahme im Langendorffherz	31
II.	Einfluß von Chinidin auf die Digoxinkinetik	33
II.1.	Vergleichende Literaturübersicht	33
II.2.	Einfluß von Chinidin auf die Gewebebindung von Digoxin	39
II.3.	Determinanten der Verteilung von Digoxin zwischen Serum und Gewebe	44
II.4.	Einfluß von Chinidin auf die Digoxinverteilung als Ausdruck einer Digoxintransporthemmung	51
II.5.	Einfluß von Chinidin auf Serumkonzentration und Clearance von Digoxin	55
F.	ZUSAMMENFASSUNG	61
G.	LITERATURVERZEICHNIS	64

A. EINLEITUNG

Die kombinierte Gabe von Digoxin und Chinidin führt zu höheren Digoxinspiegeln im Blut (bzw. Plasma, Serum), als die Verabreichung derselben Digoxindosis alleine (13). Falls die so erhöhten Digoxinspiegel auch pharmakologisch wirksam werden (was nicht als selbstverständlich vorausgesetzt werden kann), ergibt sich daraus die Gefahr einer Digoxinintoxikation, denn die therapeutische Breite der Herzglykoside, also auch von Digoxin, ist bekanntlich gering. Der Anstieg der Serumdigoxinkonzentration (SDK) unter Chinidingabe ist folglich von großer klinischer bzw. praktischer Relevanz, zumal bei Herzerkrankungen relativ häufig die Kombination dieser beiden Medikamente zum Einsatz kommt.

Es überrascht daher nicht, daß seit den ersten Berichten über die Erhöhung der SDK bei gleichzeitiger Chinidingabe (11,30) zahlreiche Untersuchungen vorgenommen wurden (Übersicht in (13)), die im wesentlichen zwei Ziele verfolgten: Einerseits sollte festgestellt werden, inwieweit die durch Chinidin angehobenen Digoxinspiegel tatsächlich wirksam werden und damit zu einer Intoxikation führen können.

Zum anderen wurde versucht, die dieser Wechselwirkung zugrundeliegenden pharmakokinetischen Mechanismen aufzuklären.

Was den ersten Punkt anbelangt, scheint sich mittlerweile die Annahme durchgesetzt zu haben, daß die Gefahr einer Digoxinintoxikation bei begleitender Chinidingabe besteht: Verschiedene klinische Beobachtungen im Rahmen der Studien zu dieser Wechselwirkung sind als Anzeichen einer solchen Intoxikation aufzufassen (13) und tierexperimentelle Befunde zeigen, daß Chinidin die Dosis-Wirkungs-Kurve von Digoxin nicht verändert (31). Es wird daher heute empfohlen, die Digoxingabe bei begleitender Chinidinmedikation prophylaktisch auf die Hälfte der üblichen Dosis zu reduzieren (13), bzw. nach den Ergebnissen von Serumsiegelkontrollen auszurichten.

Die Untersuchungen zur Digoxinkinetik unter Chinidineinfluß deckten auf, daß Chinidin hauptsächlich zwei voneinander unabhängige pharmakokinetische Parameter von Digoxin beeinflußt (13): Regelmäßig wird durch Chinidin die Clearance, weniger häufig das Verteilungsvolumen von Digoxin reduziert. (Die Halbwertszeit, ein dritter wichtiger pharmakokinetischer Parameter, wird

meist verlängert; aber das geschieht in Abhängigkeit von den Änderungen der beiden erstgenannten Größen.)

Wie jedoch diese Abnahme der Clearance und des Verteilungsvolumens im Einzelnen zustandekommt, ist nur teilweise geklärt:

Zu den gesicherten Erkenntnissen gehört, daß bei der Verminderung der Digoxinausscheidung die chinidinbedingte Hemmung der aktiven renalen Digoxinsekretion eine ganz wesentliche Rolle spielt (13,59). Weniger klar liegen die Verhältnisse bei der nicht-renalen Digoxinelimination aus dem menschlichen Organismus (vgl. dazu aber die Ergebnisse aus Tierversuchen in Kap. E.II.1.)

Über die Verringerung des Verteilungsvolumens existieren widersprüchliche Angaben; soferne sie überhaupt auftritt (vgl. dazu (13)), wird als Ursache meist vermutet, daß Digoxin durch Chinidin aus seiner Gewebefixierung verdrängt werde. Diese Vermutung ist aber mit verschiedenen Versuchsergebnissen - wie später ausführlich dargestellt wird (Kap. E.II.1.+2.) - schlecht vereinbar.

Letztlich ist also das Wissen um die der Chinidin-Digoxin-Wechselwirkung zugrundeliegenden Mechanismen noch recht lückenhaft, zahlreiche Fragen bleiben offen.

Da die Untersuchungsmöglichkeiten am Menschen - z.B. gerade was die Digoxinverteilung zwischen Serum und Gewebe anbelangt - relativ eng begrenzt sind, ist es nötig, zur Beantwortung dieser offenen Fragen auf Tierversuche zurückzugreifen. Es hat sich gezeigt, daß die Chinidin-Digoxin-Wechselwirkung nach Einmaldosisgabe der beiden Medikamente in verschiedenen Tierspezies, darunter auch dem Meerschweinchen, offenbar ganz ähnlich verläuft wie beim Menschen (vgl. die Literaturangaben in Kap. E.II.1.); ein wesentliches Kriterium dieser Wechselwirkung beim Menschen, die anhaltende Erhöhung der SDK auch unter Dauermedikation, wurde jedoch bisher nur bei Hunden nachgewiesen. Demnach sollten sich Hunde zum Studium der Chinidin-Digoxin-Wechselwirkung gut eignen. Aus verschiedenen, nicht zuletzt ökonomischen Gründen wäre es aber wünschenswert, weitere Versuche an einem kleineren Tier, wie eben dem Meerschweinchen, durchführen zu können.

Somit stellte sich für die hier vorgelegte Arbeit die Aufgabe, zu prüfen, inwieweit im Organismus des Meerschweinchens auch im Langzeitversuch, also unter Dauermedikation, die Chinidinkoadministration zu einer Einschränkung der Digoxinclearance und damit zu einer anhaltenden Erhöhung der SDK führt.

Darüberhinaus sollte jedoch auch ein Beitrag zur Beantwortung der Frage geleistet werden, wie Chinidin das Verteilungsvolumen von Digoxin beeinflusst. Deshalb wurden in diesem Langzeitversuch nicht nur die Serumspiegel von Digoxin, sondern auch seine Aufnahme in einige Organe, die den größten Teil des Digoxin-Verteilungsvolumens repräsentieren, bestimmt.

Da aber die Bedingungen für die Digoxinaufnahme im Gewebe in vivo nur in begrenztem Umfang kontrolliert werden können, wurde zusätzlich noch ein in-vitro-Versuch durchgeführt, in dem - unter soweit wie möglich standardisierten Bedingungen - die Auswirkung von Chinidin auf die Digoxinaufnahme in einem nach Langendorff (38) isoliert perfundierten Herzen untersucht wurde.

B. MATERIAL UND METHODEN

I. Versuche mit dem Langendorff-Herz

I.1. Versuchstiere

Es wurden ausgewachsene Meerschweinchen beiderlei Geschlechts (Riedl, München, BRD) mit einem Körpergewicht zwischen 400 und 500 g verwendet. Die Anzahl der Tiere betrug in Versuchs- und Kontrollgruppe jeweils 10, eine Hälfte jeder Gruppe war weiblichen, die andere männlichen Geschlechts. Tiere mit deutlichen pathologischen Veränderungen (z.B. Herzbeutelverwachsungen) wurden von den Versuchen ausgeschlossen.

I.2. Medikamente und Chemikalien

Digoxin (Lanacor^R-Ampullen) und Chinidinbisulfat-Tetrahydrat wurden freundlicherweise von der Fa. Boehringer Mannheim (Mannheim, BRD) kostenlos zur Verfügung gestellt. 12α -³H-Digoxin (spezifische Aktivität 13,9 Ci/mMol, vom Hersteller angegebene radio-chemische Reinheit > 98%) wurde von New England Nuclear (Dreieich, BRD), die für seine Bestimmung notwendige Szintillationsflüssigkeit Monophase 40 von der Packard Instrumente GmbH (Frankfurt, M., BRD) bezogen, alle übrigen Chemikalien waren von analytischem Reinheitsgrad und im üblichen Laborbedarfshandel erhältlich.

I.3. Prinzip der Langendorffschen Versuchsanordnung

Ein Versuchstier wird durch einen Genickschlag getötet. Das Herz wird möglichst schnell entnommen und von anhängenden Geweben - wie Lungen, Gefäßen, Herzbeutel usw. - befreit. In den verbliebenen Aortenstumpf wird eine Kanüle eingebunden, durch die das Herz nun mit einer geeigneten Flüssigkeit (Tyrodelösung,

Ringerlösung, Krebs-Henseleit Puffer, heparinisiertes Blut o.ä. - jeweils oxygeniert) von einem höhergelegenen Reservoir aus oder auch durch eine konstant arbeitende Pumpe "retrograd", d.h. via Aortenstumpf und Koronararterien, "durchblutet" und somit über mehrere Stunden funktionsfähig erhalten werden kann.

1.4. Der Langendorffapparat

Einen schematischen Überblick über den in den vorliegenden Versuchen verwendeten Langendorffapparat zeigt Abb.1. (S.6).

Als Perfusionsmedium diente ein modifizierter Krebs-Henseleit-Bikarbonat-Puffer (K-H-Puffer) folgender Zusammensetzung (in mMol/l): NaCl 118,5; KCl 4,7; CaCl_2 1,3; NaH_2PO_4 1,2; MgSO_4 1,2; NaHCO_3 25,0 sowie Glukose 11,0.

Aus einem Vorratsbehälter wurde dieser Puffer mit einer Rollerpumpe (Minipuls II, Abimed, Düsseldorf, BRD) durch ein Mikrofilter (Millipore Membranfilter, Typ SM, Porenweite 7 μm , in einem Swinnex Filterhalter, Durchmesser 47 mm; Millipore Corporation, Massachusetts, USA) in einen Glaszylinder gefördert, wo er beständig kräftig mit Carbogen (95% O_2 , 5% CO_2) durchperlt wurde. Dadurch oxygeniert und auf pH 7,4 eingestellt wurde der Puffer wieder mittels der Rollerpumpe durch ein weiteres Membranfilter (wie oben) und ein thermostatgesteuertes Wärmebad (39°C, ergab eine Herztemperatur von 37°C) bis zu dem für das Herz vorgesehenen Ansatzstutzen weitergepumpt.

Diesem, auf 9,8 ml/min festgelegten Perfusionsfluß wurden die Wirkstoffe Digoxin (Lanicor^R gemischt mit Tracer-Mengen radioaktiven Digoxins) und Chinidinbisulfat, jeweils gelöst in glukosefreiem K-H-Puffer (bei den Kontrollversuchen dieselbe Digoxinlösung und chinidinfreier K-H-Puffer), erst kurz vor dem Herzen beigemischt. In Vorversuchen hatte nämlich die frühere Zugabe des Digoxins in den Perfusionsstrom, z.B. einfach durch Austausch des wirkstofffreien gegen einen wirkstoffhaltigen K-H-Puffer im Vorratsgefäß, zu einer völlig ungleichmäßigen Verteilung des Digoxins im Perfusionssystem und somit zu starken Schwankungen der Digoxinkonzentration im Perfusat geführt. Die kontinuierliche Zufuhr der Wirkstofflösungen erfolgte nun durch eine Infusionspumpe (Typ 1831, Braun-Melsungen, Melsungen, BRD) über getrennte Zuleitungen zu einem im Seitenschluß in den Perfusionsstrom mündenden T-Stutzen. Mit 0,2 ml/min (entspricht 2% der Gesamtperfusionsrate) wurde die Pumprate der Infusionspumpe so gering eingestellt, daß sich der Anteil des nicht mit Carbogen vorbehandelten

und glukosefreien K-H-Puffers aus der Infusionspumpe in der endgültigen Perfusionslösung nicht wesentlich auf die Herzfunktion auswirken konnte.

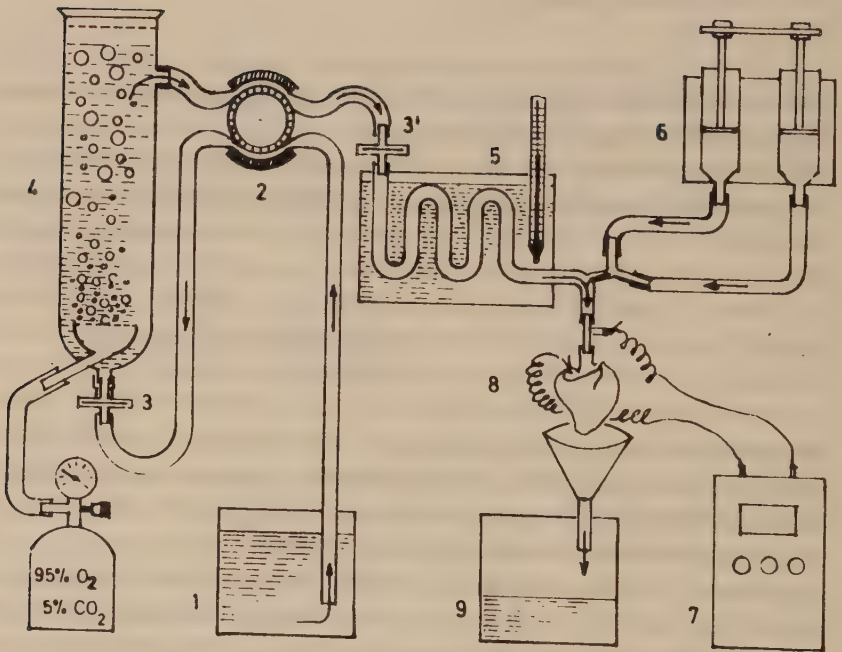


Abb.1: Der Langendorffapparat

- 1 Vorratsbehälter mit K-H-Puffer
- 2 Rollerpumpe
- 3 und 3' Membranfilter
- 4 Begasungszylinder
- 5 Wärmebad
- 6 Infusionspumpe
- 7 Schrittmacher
- 8 Langendorffherz (mit Schrittmacherelektroden)
- 9 Auffangbehälter für Perfusat

- Die Pfeile zeigen die Richtung des Perfusionsflusses an -

Die Wirkstoffkonzentration in den Infusionslösungen wurde so bemessen, daß sich im Perfusat eine Chinidinkonzentration von $1,4 \mu\text{g/ml}$ ($= 4,4 \mu\text{Mol/l}$) und eine Digoxinkonzentration von 78 ng/ml ($= 10^{-7} \text{ Mol/l}$) befanden. Diese Konzentrationen zeitigten in eigenen Vorversuchen und in vergleichbaren Untersuchungen anderer Arbeitsgruppen (37,63) deutliche inotrope, aber keine toxischen Wirkungen am Meerschweinchenherzen und wurden somit als im therapeutischen Bereich befindlich betrachtet.

Der Anteil des radioaktiv markierten Digoxins in der Digoxinlösung wurde so gewählt, daß sich bei der Auswertung von Perfusatsproben à $100 \mu\text{l}$ mit ca. 1500 Counts per minute (Cpm) eine ausreichende Meßgenauigkeit ergab.

Da sich die Kontraktionsfrequenz des Herzmuskels auf die Digoxin-Aufnahmerate im Gewebe auswirkt (37), wurden die Herzen nach operativer Entfernung des Sinusknotens durch Rechteckimpulse (5 msec, 20 % über dem Schwellenwert) aus einem SIM Sala BIM/BAM (Baseler Dusalla GmbH, Bern, Schweiz) zu einer konstanten Frequenz von 3,5 Hz ($= 210 \text{ Schläge/min}$) gezwungen, wobei eine Elektrode am rechten Vorhof, die andere an der in die Aorta eingebundenen Metallkanüle angelegt wurde. (Die spontane, vom intakten Sinusknoten ausgehende Schlagfrequenz ohne Schrittmachereinfluß liegt unter den hier gewählten Bedingungen ebenfalls bei etwa 200/min.)

1.5. Versuchsablauf

Während eines Zeitraums von etwa einer Stunde (gerechnet ab dem Tod des Meerschweinchens) wurden die Herzen nur mit wirkstofffreiem K-H-Puffer perfundiert. Nach Ablauf dieser sogenannten Äquilibrationsphase sollten die Herzen sich den veränderten Bedingungen angepaßt haben und eine gleichmäßige Funktion zeigen (andernfalls - z.B. bei gehäuftem Auftreten von Arrhythmien - wurde der Versuch abgebrochen). Kurz vor Ende dieser Phase wurden dem Sammelbehälter, der das aus dem Herzen tropfende Perfusat auffing, Proben für die Leerwertbestimmung abgenommen (2 x 2 ml für Chinidin, 3 x 0,2 ml für Digoxin).

Durch Zuschalten der Infusionspumpe für einen Zeitraum von 90 min wurden die Herzen dann mit wirkstoffhaltigem K-H-Puffer perfundiert (vgl. Kap. B.1.4.). Wieder kurz vor Ende dieser Phase wurden Perfusatsproben (wie oben) für die Chinidin- und/oder Digoxinbestimmung entnommen.

Der Versuch wurde beendet durch eine 5minütige Perfusion mit Luft. Die so "getöteten" und von intravasalem, wirkstoffhaltigem Puffer weitgehend befreiten Herzen wurden abgenommen und durch einige Schnitte eröffnet. Die letzten oberflächlich anhaftenden Pufferreste wurden durch kurzes Auspressen in Filterpapier beseitigt. Für die Digoxinbestimmung wurde je eine Probe aus der rechten und der linken Kammer sowie dem Septum entnommen und abgewogen (jeweils etwa 100 - 150 mg). Der Rest des Herzmuskelgewebes wurde ebenfalls abgewogen und zur Reserve oder bis zur allfälligen Chinidinbestimmung bei - 30°C eingefroren.

1.6. Digoxin- und Chinidinbestimmung

Als Digoxinstandard dienten 5 Proben à 20 µl aus der konzentrierten Digoxinlösung in der Infusionspumpe. Sämtliche Puffer- und Gewebeproben wurden in einem Packard Tri-Carb Sample Oxidizer (Modell B 306) verbrannt, die in ihnen enthaltene Radioaktivität anschließend in einem Packard Tri-Carb Scintillation Spectrometer (Modell 3385 - beide Geräte Packard Instrumente-GmbH, Frankfurt, BRD) bestimmt. Das Mitlaufen eines äußeren Standards bei jeder einzelnen Probe erlaubte die Umrechnung der vom Spectrometer registrierten Zerfälle (Cpm) in die tatsächlich stattfindenden Zerfälle (Decays per minute = Dpm). Da im isolierten Meerschweinchenherzmuskel keine Metabolisierung von Digoxin stattfindet (23,37), entspricht die so ermittelte ³H-Aktivität der Proben direkt ihrem Digoxingehalt.

Für die Messung des Chinidins wurde das von der Digoxinbestimmung übriggebliebene Herzmuskelgewebe eines jeden Versuchs mit 2 ml aqua dest. in einem 5ml Potter mit Teflonkolben homogenisiert; der Chinidingehalt dieses Homogenats sowie der Perfusatproben wurde nach C.T.Ueda et al. (64) fluorometrisch bestimmt. Als Standard diene dafür eine frisch angesetzte Chinidinlösung (1,15 µg Chinidin/ml H₂O), bzw. das mit dieser Standardlösung homogenisierte Herzmuskelgewebe aus einem der Kontrollversuche.

II. In-vivo-Langzeitversuch

II.1. Versuchstiere

In diesem Versuch wurden nur weibliche Meerschweinchen verwendet (Riedl, München, BRD), und zwar jeweils 8 in Versuchs- und Kontrollgruppe. Das Körpergewicht lag wieder zwischen 400 und 500 g. Die Tiere waren schon vor Versuchsbeginn in ihren Laufställen eingewöhnt und hatten freien Zugang zu Nahrung und Wasser.

II.2. Medikamente und Chemikalien

Die hier verwendeten Chinidin- und Digoxinpräparate waren dieselben wie in den Versuchen mit dem Langendorffherzen. Aus dem Lanicor^R und der - aus Gründen der besseren Dosierbarkeit - mit Alkohol 1:5 verdünnten 12α -³H-Digoxinlösung wurde eine Injektionslösung gemischt, die pro ml 230 µg Digoxin und 25 µCi Aktivität enthielt. Chinidinbisulfat(x 4H₂O) wurde in isotoner NaCl-Lösung in einer Konzentration von 50 mg/ml (= ca 30 mg Chinidin/ml) gelöst. Der für die Digoxinbestimmung verwendete Enzymimmunoassay (Enzymun-Test^R Digoxin, Boehringer Mannheim, Mannheim, BRD) und der für seine Durchführung notwendige Laborarbeitsplatz wurden freundlicherweise von Herrn Priv. Doz. Dr. W.Doering im Städtischen Krankenhaus München-Schwabing zur Verfügung gestellt.

II.3. Versuchsablauf

Die oben beschriebenen Injektionslösungen wurden 10 mal hintereinander in 8stündigen Abständen und in einer Dosierung von je 1 ml pro kg Körpergewicht (= 230 µg Digoxin/kg und 30 mg Chinidin/kg) intraperitoneal injiziert. In der Kontrollgruppe wurde die Chinidinlösung durch reine NaCl-Lösung ersetzt. 4 Stunden nach der letzten Injektion wurden alle Meerschweinchen dekapitiert und möglichst viel Blut zur Serumgewinnung aufgefangen. Aus dem Serum jeden

Tieres wurden je 2 Proben zu 0.2 ml für die Aktivitätsbestimmung, 3 Proben zu 0.1 ml für die Digoxinbestimmung mit dem Enzymun-Test^R und gegebenenfalls 2 x 1 ml für die Chinidinbestimmung abpipettiert.

Weiter wurden jedem Tier aus 6 verschiedenen Organen (Leber, Niere, Lunge, Herz, Skelettmuskel, Gehirn) je 3 Gewebeproben à ca. 200 mg, sowie die gesamte Gallenblase (mit Inhalt) entnommen. Alle Proben wurden bis zur Weiterverarbeitung bei - 30°C eingefroren.

II.4. Digoxin- und Chinidinbestimmung

Die Serum-Chinidinkonzentration wurde bestimmt, wie in Kap. B.I.6. beschrieben. Ebenso der ³H-Gehalt der Serum- und Gewebeproben. Als Standard für die Chinidinbestimmung diente eine Lösung mit 3 µg Chinidin/ml H₂O, als Leerwert ein Serum aus der Kontrollgruppe. Für den ³H-Standard wurde die Injektionslösung, für den Leerwert Verbrennungproben ohne Verbrennungssubstrat verwendet.

Da bei dieser ³H-Aktivitätsbestimmung sämtliche radioaktive Metabolite des Digoxins miterfaßt werden, wurde im Serum zusätzlich eine Digoxinbestimmung mit dem Enzymun-Test^R Digoxin vorgenommen. Das Prinzip dieses Enzymimmunoassays, der nach der Arbeitsvorschrift des Herstellers ausgeführt wurde, sei hier kurz skizziert (s. auch (2) und die dem Enzymun-Test^R Digoxin beiliegende Arbeitsvorschrift):

Das Digoxin der Probe und ein mit einer Inkubationslösung zugeführtes, enzymmarkiertes (Peroxydase = POD) Digoxin konkurrieren um die an der Wand eines Probenröhrchens fixierten Digoxinantikörper. Nach abgeschlossener Inkubation wird das Röhrchen entleert und mit Wasser gespült. Nun wird der an der Wand verbliebene Antikörper-Digoxin-Enzymkomplex - dessen Konzentration umgekehrt proportional zur Konzentration des Probanddigoxins ist - durch eine nachgeschaltete Indikatorreaktion (POD + H₂O₂ + Chromogen → Farbreaktion) sicht- bzw. meßbar gemacht.

Da die obere Meßbereichsgrenze des Enzymun-Test^R Digoxin - in Anlehnung an die menschlichen Serum-Digoxinkonzentrationen - bei etwa 5 ng/ml liegt, wurden die wesentlich höhere Digoxinkonzentrationen enthaltenden Meerschweinchen-seren mit isotonem Phosphatpuffer (pH 7,4) 1:5 verdünnt. Auch für die nach der Arbeitsvorschrift hergestellte Standardreihe und den Leerwert wurde ein so verdünntes Serum eines unbehandelten Meerschweinchens verwendet. Die abschließen-

de photometrische Bestimmung der Indikatorreaktion wurde mit einem Eppendorf-Digitalphotometer 6115 A (Eppendorf Gerätebau, Hamburg, BRD) durchgeführt. Es bleibt noch darauf hinzuweisen, daß auch dieser Digoxintest nicht absolut digoxin-spezifisch ist, d.h. die kardioaktiven Digoxinmetabolite Digoxigenin-Bis-Digitoxosid, Digoxigenin-Mono-Digitoxosid und Digoxigenin werden - laut Beilageblatt "Hinweis" des Herstellers - in der hier verwendeten Charge 01 zu 100% miterfaßt. Die Ergebnisse dürften also in etwa denen einer Chloroformextraktion des Serums entsprechen.

II.5. Rechnerische Auswertung

Sämtliche für die Auswertung des Kurz- und Langzeitversuchs nötige Berechnungen wurden auf einem HP 97-Tischrechner (Hewlett Packard, Berlin, BRD) und einem Olivetti Computer (P 6060, Olivetti, Frankfurt M., BRD) durchgeführt. Durchschnittswerte werden im folgenden mit dem Standardfehler des Mittelwerts ($\pm$ S.E.) angegeben. Die statistische Auswertung erfolgte nach Standardmethoden (52). Um auch nicht-lineare Korrelationen erfassen zu können, wurde neben dem Korrelationskoeffizienten (r) auch der Spearmansche Rangkorrelationskoeffizient (r_s) berechnet (und angegeben). Unterschiede zwischen Mittelwerten wurden mit dem t-Test (nach Student) beurteilt und ebenso wie die (Rang-)Korrelationskoeffizienten als signifikant betrachtet, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit gleich oder kleiner als 5% war ($p \leq 0,05$).

C. ERGEBNISSE

I. Versuche mit dem Langendorffherz

I.1. Digoxinaufnahme

Als Maßstab für die Digoxinaufnahme im Herzgewebe wurden die Digoxin-Verteilungskoeffizienten (= Quotienten aus (ng Digoxin pro g frischen Gewebes) zu (ng Digoxin pro g = ml Perfusat)) berechnet, im folgenden kurz "G/P-Werte" genannt.

Da sich überraschenderweise geschlechtsspezifische Unterschiede in den G/P-Werten ergaben, schlüsselt Tab.1 die Ergebnisse nach Versuchs- (Dig+Chi) und Kontrollgruppe (Dig-Kontr.) sowie nach dem Geschlecht (♀ und ♂) auf.

Gruppe	♀ + ♂ (10)	davon: ♀ (5)	♂ (5)
Dig+Chi	<u>4,39</u> ± 0,10	<u>4,59</u> * ± 0,12	<u>4,19</u> ± 0,12
Dig-Kontr.	<u>4,81</u> ± 0,17	<u>5,20</u> * ± 0,22	<u>4,43</u> ± 0,13

Tab.1: Digoxinaufnahme im Langendorffherz

nach 90minütiger Perfusion mit 78 ng Digoxin/ml und 1,4 µg Chinidin/ml (Dig+Chi), bzw. nur Digoxin in der Kontrollgruppe (Dig-Kontr.). Zusätzliche Aufschlüsselung nach Geschlecht.

Angegeben sind jeweils mittlere G/P-Werte ± Standardfehler des Mittelwertes (S.E.). Anzahl der untersuchten Tiere in Klammer. * = signifikanter Unterschied ($p < 0,05$) zur anderen Gruppe und zum anderen Geschlecht innerhalb derselben Gruppe.

Die Reduktion der Digoxinaufnahme im Herzmuskel unter Chinidineinfluß, die sich in den - gegenüber der Kontrollgruppe - kleineren G/P-Quotienten der Versuchsgruppe abzeichnet, war also nur für die Untergruppe der weiblichen Versuchstiere signifikant ($p = 0,04$; für die Untergruppen der männlichen Tiere ergibt sich im t-Test: $p = 0,23$, für Versuchs- und Kontrollgruppe ist $p = 0,054$ - also knapp über der definierten Signifikanzschwelle). Außerdem zeigten die

Herzen der weiblichen Tiere sowohl in der Versuchsgruppe ($p = 0,046$), als auch in der Kontrollgruppe ($p = 0,02$) eine signifikant höhere Digoxinaufnahme als die der männlichen Tiere.

Da nach Harrison und Gibaldi (25,26) die Digoxinaufnahme perfusionsratenlimitiert ist, wurden die durchschnittlichen Perfusionsraten pro g Herzgewebe in Versuchs- und Kontrollgruppe und den nach Geschlecht getrennten Untergruppen berechnet und miteinander verglichen. (Wegen der unterschiedlichen Herzgrößen ergaben sich - bei einer konstanten Perfusionsrate von 10 ml/min - von Versuch zu Versuch unterschiedliche Perfusionsraten/g Gewebe.) Da sich keine signifikanten Differenzen fanden (t-Test), dürften die festgestellten Unterschiede in der Digoxinaufnahme nur auf den Einfluß des Chinidins bzw. des Geschlechts der Versuchstiere zurückzuführen sein.

Die geschlechtsspezifischen Unterschiede gaben Anlaß, im folgenden die Ergebnisse aus den weiblichen und männlichen Untergruppen getrennt auszuwerten und die Versuchs- und Kontrollgruppe nicht mehr als homogene Stichproben aus einheitlichen Grundgesamtheiten zu betrachten.

1.2. Chinidinaufnahme

Wie für Digoxin wurden auch die Verteilungskoeffizienten (= G/P-Werte) für Chinidin berechnet. Tab.2 schlüsselt wieder nach dem Geschlecht auf.

♀ (5)	♂ (4 ¹)
<u>30,6</u> ± 1,19	<u>26,8</u> ± 1,46

Tab.2: Chinidinaufnahme im Langendorffherz

nach 90minütiger Perfusion mit 78 ng Digoxin/ml und 1,4 µg Chinidin/ml. Aufschlüsselung nach Geschlecht. Angegeben sind jeweils mittlere G/P-Werte ± S.E. Anzahl der Versuchstiere in Klammer (¹: wegen eines Fehlers bei der Chinidinbestimmung konnten nur 4 der 5 männlichen Herzen ausgewertet werden).

Auch für die Chinidinaufnahme zeichnet sich also ein Unterschied zwischen weiblichen und männlichen Versuchstieren ab, der jedoch im t-Test auf einem Signifikanzniveau von 5% nicht abzusichern war ($p = 0,08$).

1.3. Zusammenhang zwischen Chinidinkonzentration im Gewebe und Digoxinaufnahme

Schäfer et al. (54) berichten in einer Arbeit über die Digoxin-Chinidin-Wechselwirkung beim Meerschweinchen über eine negative Korrelation zwischen der Chinidinkonzentration im Plasma und der Digoxinkonzentration im Gewebe (Dünndarm). Da in der vorliegenden Versuchsanordnung die Chinidinkonzentration im Perfusat praktisch konstant war, wurde der Zusammenhang zwischen der Chinidinkonzentration im Gewebe und der Digoxinaufnahme (G/P-Werte) untersucht. Bei den weiblichen Tieren fand sich weder mit der Rangkorrelation nach Spearman ($r_s = -0,3$) noch mit der Berechnung des Korrelationskoeffizienten ($r = -0,212$) ein signifikanter Zusammenhang. Dieselben Berechnungen ergeben dagegen bei den männlichen Tieren eine signifikante, allerdings positive Korrelation der beiden Werte ($r_s = 0,8$; $r = 0,989$; $p < 0,05$; s. Abb.2).

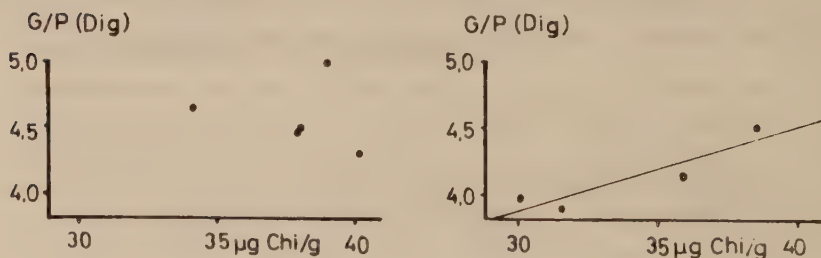


Abb.2: Korrelation zwischen Chinidinkonzentration im Gewebe und Digoxinaufnahme im Langendorffherz

nach 90minütiger Perfusion mit 78 ng Digoxin/ml und 1,4 µg Chinidin/ml.

Weibl. Tiere (links): $r = -0,212$ (n.s.)

Männl. Tiere (rechts): $r = 0,989$ ($p < 0,05$); $y = 1,532 + 0,078 \cdot x$

II. In-vivo-Langzeitversuch

II.1. Digoxin-, ^3H - und Chinidinkonzentration im Serum

Weder in der Serum-Digoxinkonzentration (gemessen mit dem Enzymimmunoassay) noch in der Serum-Dpm-Konzentration (im Szintillationszähler bestimmte ^3H -Aktivität, schließt radioaktive Digoxinmetabolite mit ein) konnten signifikante Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe festgestellt werden (im t-Test ist $p = 0,48$ bzw. $0,70$). Abb.3 zeigt die Mittelwerte.

Die Digoxinkonzentrationen in der Versuchsgruppe schwankten von $5,0 - 19,5 \text{ ng/ml}$, in der Kontrollgruppe von $6,7 - 22,4 \text{ ng/ml}$. Die Dpm-Konzentrationen schwankten von $3,0 - 4,2 \times 10^4$ (Versuchsgr.) bzw. $2,7 - 4,0 \times 10^4$ Dpm/ml (Kontrollgr.). Die Extremwerte der Chinidinkonzentration betrugen $1,25$ und $3,67 \text{ µg/ml}$.

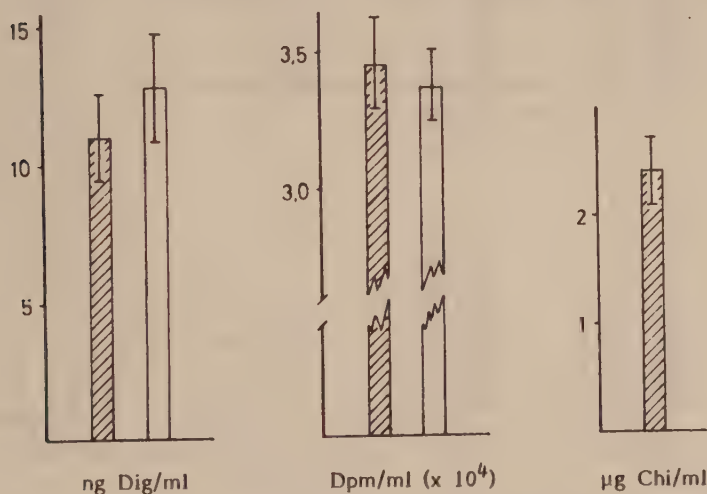


Abb.3: Serumkonzentrationen von Digoxin, Dpm und Chinidin

nach 10 i.p.-Injektionen von je 230 µg Digoxin/kg (teils radioaktiv markiert) und 30 mg Chinidin/kg (Versuchsgruppe; schraffierter Balken) bzw. nur Digoxin (Kontrollgruppe; leerer Balken). Injektionsintervall 8 Stunden; Blutabnahme 4 Stunden nach der letzten Injektion. Anzahl der Tiere je Gruppe: $n = 8$; Dargestellt sind Mittelwerte $\pm$ S.E. Es bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe.

II.2. ^3H -Aufnahme verschiedener Gewebe

Die Aufnahme radioaktiv markierten Digoxins in verschiedene Gewebe wurde - analog zu den Versuchen mit dem Langendorffherz - durch den Quotienten (Dpm/g frischen Gewebes) zu (Dpm/g Serum) ausgedrückt. Dieser ^3H -Verteilungskoeffizient, im folgenden "G/S-Wert" genannt, ist jedoch nicht direkt mit dem G/P-Wert (aus den Versuchen mit dem Langendorffherz) zu vergleichen, da die Radioaktivitätsbestimmung nach dem in-vivo-Versuch die hier entstandenen Digoxin-metabolite und das im Serum proteingebundene Digoxin miterfaßt.

Abb.4 zeigt die mittleren G/S-Werte der untersuchten Gewebe (respektive Gallenblase samt Inhalt).

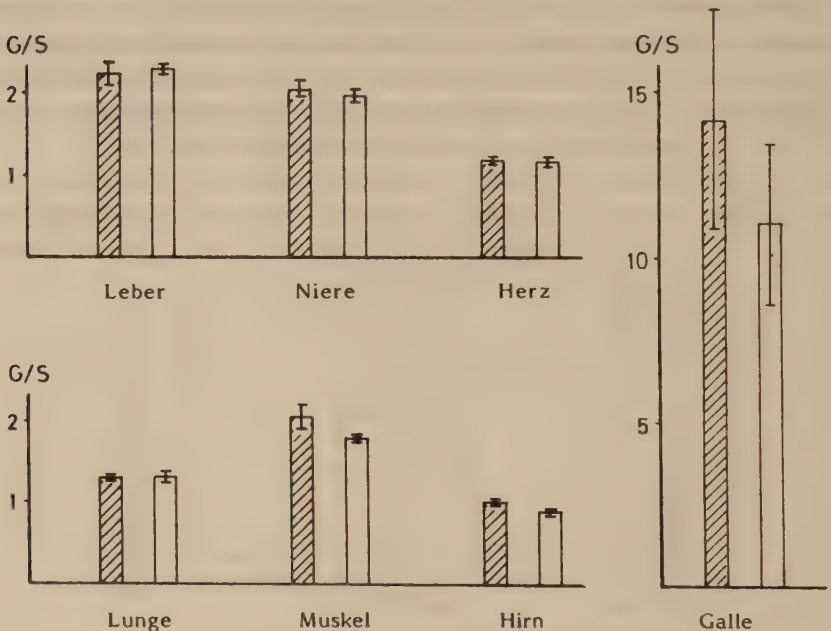


Abb.4: ^3H -Aufnahme verschiedener Gewebe

nach 10 i.p.-Injektionen von je 230 μg Digoxin/kg (teils radioaktiv markiert) und 30 mg Chinidin/kg (Versuchsgruppe; schraffierter Balken) bzw. nur Digoxin (Kontrollgruppe; leerer Balken). Injektionsintervall 8 Stunden; Blut- und Gewebegewinnung 4 Stunden nach der letzten Injektion. Anzahl der Tiere je Gruppe: $n = 8$; Dargestellt sind mittlere G/S-Werte $\pm$ S.E. Es bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe.

Die Unterschiede der Mittelwerte zwischen Versuchs und Kontrollgruppe sind durchwegs nicht signifikant. Für Leber, Niere, Lunge, Herz und Galle liegt p im t-Test zwischen 0,44 und 0,88; nur für den Muskel ($p = 0,13$) und das Gehirn ($p = 0,07$) zeichnet sich eine Annäherung an die definierte Signifikanzschwelle von 5% ab. In beiden Fällen war die mittlere Dpm-Aufnahme in der Versuchsgruppe höher als in der Kontrollgruppe.

II.3. Zusammenhang zwischen den Serumkonzentrationen von Chinidin, Digoxin und ^3H -Aktivität

Im Serum der mit Digoxin und Chinidin behandelten Tiere fand sich eine enge Korrelation zwischen Chinidinkonzentration einerseits und Digoxin- bzw. Dpm-Konzentration andererseits. Bei Berechnung der Rangkorrelation nach Spearman ist $r_s = 0,8571$ (Chi-Dig; $p = 0,005$) bzw. $r_s = 0,9524$ (Chi-Dpm; $p < 0,001$). Auch die Berechnung des Korrelationskoeffizienten zeigt hochsignifikante Ergebnisse (s. Abb.5).

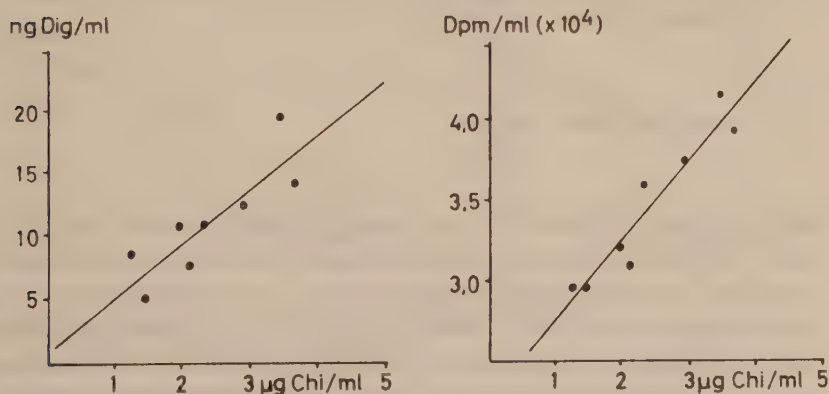


Abb.5: Korrelation zwischen den Serumkonzentrationen von Chinidin und Digoxin bzw. Dpm

Versuchsbedingungen s. Abb.3 (S.15)

Korrelation Chi-Dig: $r = 0,8481$; $p < 0,01$; $y = 0,793 + 4,269 \cdot x$

Korrelation Chi-Dpm: $r = 0,9512$; $p < 0,001$; $y = 22507 + 5019 \cdot x$

Die Korrelation zwischen den Serumkonzentrationen von Digoxin und Dpm war in der Versuchsgruppe deutlich ($r_s = 0,9286$; $p < 0,005$), in der Kontrollgruppe jedoch nicht signifikant ($r_s = 0,6726$; n.s.; s. auch Abb.6)

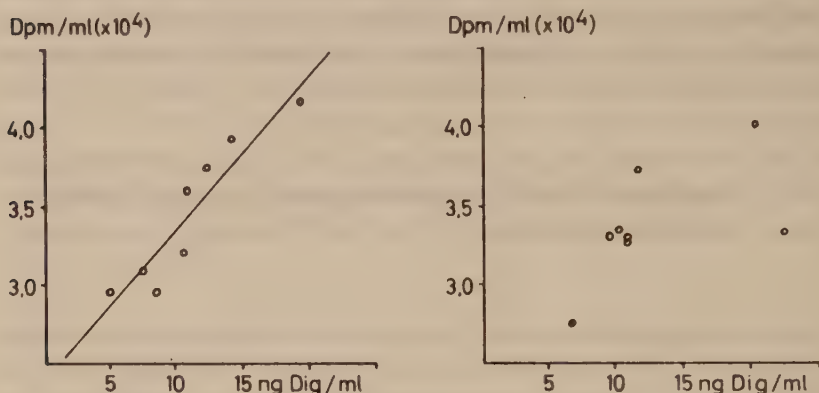


Abb.6: Korrelation zwischen den Serumkonzentrationen von Digoxin und Dpm

Versuchsbedingungen s. Abb.3 (S.15)

Versuchsgruppe (links): $r = 0,9276$; $p < 0,001$; $y = 23820 + 973 \cdot x$

Kontrollgruppe (rechts): $r = 0,5948$; n.s.

II.4. Digoxin-Metabolite im Serum

Die Bestimmung des Digoxins mit dem Enzymimmunoassay einerseits und der gesamten ³H-Aktivität mit dem Szintillationsspektrometer andererseits ermöglichte es, den Anteil der nicht chloroformlöslichen und kardiainaktiven (s. Kap. B.II.4.) Digoxinmetabolite an der Gesamtaktivität im Serum zu berechnen. Dieser Anteil beträgt in der Versuchsgruppe (Chi+Dig) $93,0\% \pm 0,8\%$, in der Kontrollgruppe (nur Dig) $91,9\% \pm 1,1\%$ der Gesamtaktivität (Mittelwerte $\pm$ S.E.). Mit $p = 0,43$ (t-Test) besteht zwischen ihnen kein signifikanter Unterschied.

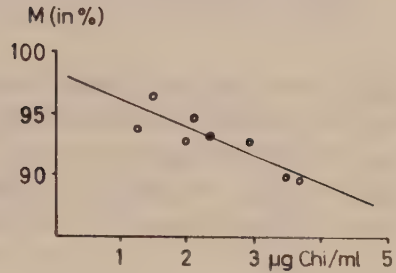
Bei den einzelnen Tieren der Versuchsgruppe fand sich jedoch eine deutliche negative Korrelation zwischen der Höhe des Chinidinspiegels und dem Prozentanteil der Metabolite an der Gesamtaktivität im Serum ($r_s = -0,7917$; $p < 0,05$; s. auch Abb.7).

Abb.7: Korrelation zwischen
Serumkonzentrationen von
Chinidin und Digoxinmetaboliten

Versuchsbedingungen s. Abb.3 (S.15)
M (in %) = Prozentanteil der Metabolite an der Gesamtaktivität im Serum

$$r = -0,8590; p < 0,01$$

$$y = 98,28 - 2,205 \cdot x$$



Noch engere negative Korrelationen bestehen allerdings zwischen der Serumkonzentration von Digoxin und dem Prozentanteil der Metabolite an der Gesamtaktivität und zwar gleichermaßen in der Versuchsgruppe ($r_s = -0,9226$; $p = 0,01$) wie in der Kontrollgruppe ($r_s = -0,9107$; $p = 0,01$; s. auch Abb.8).

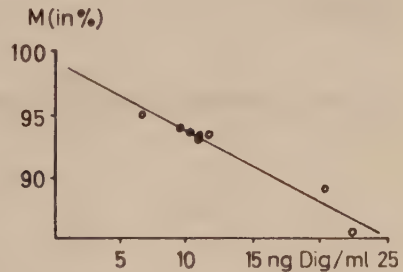
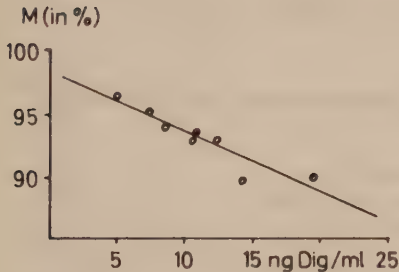


Abb.8: Korrelation zwischen den Serumkonzentrationen
von Digoxin und Digoxinmetaboliten

Versuchsbedingungen s. Abb.3 (S.15)

M (in %) = Prozentanteil der Metabolite an der Gesamtaktivität im Serum

Versuchsgruppe (links): $r = 0,9258$; $p < 0,001$; $y = 98,20 - 0,546 \cdot x$

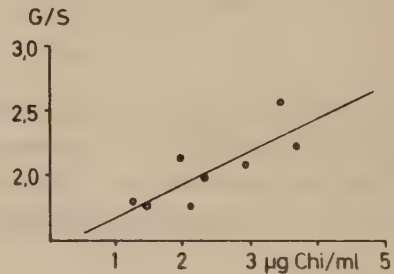
Kontrollgruppe (rechts): $r = 0,9704$; $p < 0,001$; $y = 98,88 - 0,546 \cdot x$

II.5. Zusammenhang zwischen der Serumkonzentration von Chinidin, Digoxin bzw. ^3H -Aktivität und der ^3H -Aufnahme verschiedener Gewebe

Zunächst wurde der Zusammenhang zwischen Serum-Chinidinkonzentration und ^3H -Aufnahme im Gewebe untersucht. Dabei fand sich nur für die Niere eine signifikante (und zwar positive) Korrelation zwischen den beiden Werten ($r_s = 0,6905$; $p = 0,05$; s. auch Abb.9). Die Rangkorrelations- und Korrelationskoeffizienten für diese Beziehung in den anderen Geweben zeigt Tab.3.

Abb.9: Korrelation zwischen Serum-Chinidinkonzentration und G/S-Niere

Versuchsbedingungen s. Abb.4 (S.16)
 $r = 0,8155$; $p < 0,05$
 $y = 1,428 + 0,252 \cdot x$



Tab.3: Korrelation zwischen Serum-Chinidinkonzentration und G/S-Werten

	Korrelation zw. SCK und G/S-Wert in		
		r_s	r
Versuchsbedingungen s. Abb.4 (S.16)	Leber	0,5238	0,5976
	Lunge	0,4345	0,1367
SCK = Serum-Chinidinkonzentration	Herz	0,4762	0,4592
	Muskel	0,5714	0,4006
Keiner der (Rang-)Korrelationskoeffizienten (r_s , r) ist signifikant ($p > 0,05$)	Hirn	- 0,2678	- 0,3177
	Galle	0,6071	0,5718

Deutliche Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe zeigten sich in der Korrelation von Serum-Digoxinkonzentration (bzw. -Dpm-Konzentration) und G/S-Werten.

Erwartungsgemäß waren die G/S-Werte der verschiedenen Gewebe in der Kontrollgruppe nicht signifikant mit den Serumspiegeln von Digoxin oder Dpm korreliert. In der Versuchsgruppe dagegen waren die (Rang-)Korrelationskoeffizienten für diese Beziehung in Leber und Niere deutlich signifikant und wichen in den anderen Geweben immer noch auffällig (wenn auch meist nicht signifikant) von den entsprechenden Ergebnissen aus der Kontrollgruppe ab (s. Abb.10,11 und Tab.4).

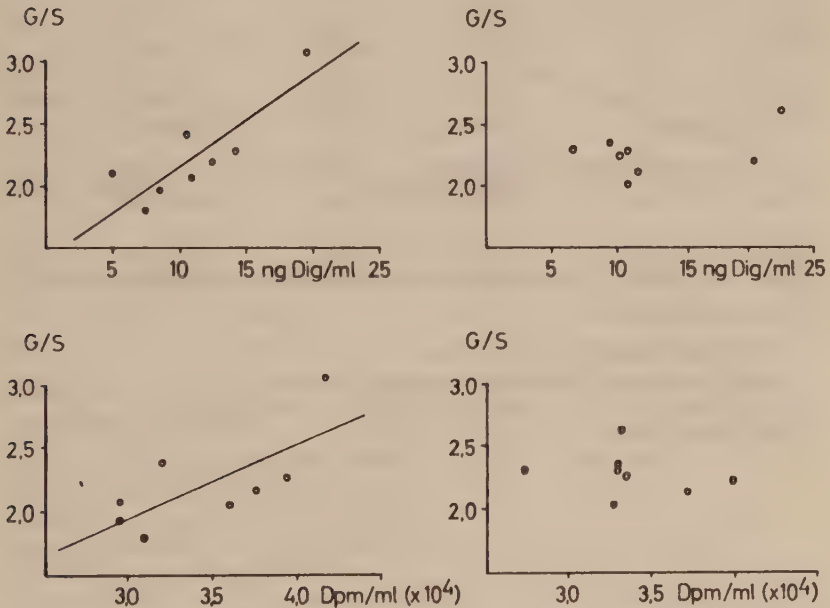


Abb.10: Korrelation zwischen den Serumkonzentrationen von Digoxin bzw. Dpm und G/S-Leber

Versuchsbedingungen s. Abb.4 (S.16)

(Rang-)Korrelationskoeffizienten s. Tab.4 (S.23)

Abbildungen links: Versuchsgruppe; rechts: Kontrollgruppe.

Korrelation Dig-G/S: $y = 1,412 + 0,073 \cdot x$

Dpm-G/S: $y = 0,205 + 0,00006 \cdot x$

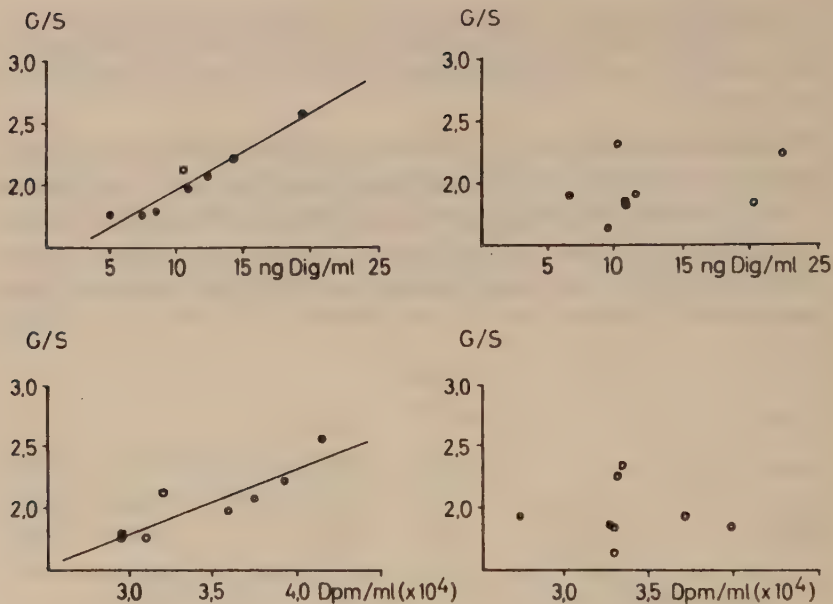


Abb.11: Korrelation zwischen den Serumkonzentrationen von Digoxin bzw. Dpm und G/S-Niere

Versuchsbedingungen s. Abb.4 (S.16)

(Rang-)Korrelationskoeffizienten s. Tab.4 (S.23)

Abbildungen links: Versuchsgruppe; rechts: Kontrollgruppe.

Korrelation Dig-G/S: $y = 1,379 + 0,059 \cdot x$

Dpm-G/S: $y = 0,233 + 0,00005 \cdot x$

Korrelation zw. SDK bzw. S-Dpm-K und G/S-Wert in		Versuchsgruppe		Kontrollgruppe	
		r_s	r	r_s	r
Leber	SDK:G/S	0,6905*	0,8492**	-0,1369	0,4503
	S-Dpm-K:G/S	0,7143*	0,7089*	-0,2619	-0,2340
Niere	SDK:G/S	0,9048**	0,9646***	0,2202	0,3278
	S-Dpm-K:G/S	0,8333*	0,8877**	0,2619	-0,0445
Lunge	SDK:G/S	0,5179	0,2081	-0,1250	-0,2504
	S-Dpm-K:G/S	0,6607	0,1988	-0,3571	-0,2833
Herz	SDK:G/S	0,7143*	0,6957	0,1369	0,0497
	S-Dpm-K:G/S	0,6429	0,6171	-0,1190	-0,1738
Muskel	SDK:G/S	0,6429	0,4939	-0,1607	-0,3061
	S-Dpm-K:G/S	0,7143*	0,5611	-0,2619	-0,3437
Hirn	SDK:G/S	-0,6012	-0,6203	-0,2679	-0,2618
	S-Dpm-K:G/S	-0,4107	-0,5611	-0,2857	-0,0672
Galle	SDK:G/S	0,3214	0,1514	-0,0536	-0,0008
	S-Dpm-K:G/S	0,4286	0,4869	-0,0238	-0,0008

Tab.4: Korrelation zwischen den Serumkonzentrationen von Digoxin bzw. Dpm und G/S-Werten

Versuchsbedingungen s. Abb.4 (S.16)

SDK = Serum-Digoxinkonzentration

S-Dpm-K = Serum-Dpm-Konzentration

$r_{(s)}$ = (Rang-)Korrelationskoeffizienten

*, **, *** = $p \leq 0,05/0,01/0,001$

D. DISKUSSION DER METHODIK

I. Versuche mit dem Langendorffherz

Die Langendorffsche Versuchsanordnung läßt zahlreiche, dem jeweiligen Versuchszweck angepaßte Variationen zu. Grundsätzlich wurde in der vorliegenden Arbeit versucht, möglichst in-vivo-ähnliche Bedingungen herzustellen, um die Ergebnisse mit den in-vivo-Versuchen vergleichen zu können. Nach Reichel (47) sollte ein solcher Vergleich, zumindest was qualitative Aspekte der Chinidin-Digoxin-Wechselwirkung anbelangt, erlaubt sein.

Einige wesentliche Charakteristika der hier gewählten Versuchsanordnung und ihre Auswirkung auf die Herzfunktion im allgemeinen sowie die Digoxinaufnahme des Herzmuskelgewebes im besonderen sollen - sofern nicht schon im Abschnitt "Methodik" darauf eingegangen wurde - im folgenden kurz diskutiert werden.

I.1. Kalziumkonzentration des K-H-Puffers

In dem alten "Originalrezept" für den K-H-Puffer (35) beträgt die Kalziumkonzentration 10 mg% = 2,5 mMol/l. Das entspricht zwar der Gesamt-Kalzium-Konzentration des Säugetierblutes, berücksichtigt aber nicht, daß die Konzentration des frei diffusibel vorliegenden Kalziums physiologischerweise nur etwa halb so groß ist (1,3 mMol/l (16)). Die Konzentration der freien Kalziumionen im Original-K-H-Puffer ist also doppelt so hoch wie in vivo, da im Puffer ja das gesamte Kalzium zunächst dissoziiert vorliegt. Nun ist zwar die Digoxinaufnahme im Herzmuskelgewebe des Meerschweinchens bei Kalziumkonzentrationen zwischen 0,6 und 3 mMol/l konstant (37), doch tritt bei höheren Kalziumkonzentrationen im K-H-Puffer eine Leistungsminderung der damit perfundierten Herzen ein, die auf den vermehrten Ausfall von Kalziumkarbonat (Löslichkeitsprodukt $10^{-8,32}$) zurückzuführen ist. Bei einer Kalziumkonzentration (Angaben in Größenordnungen) von 10^{-3} Mol/l und einer Karbonationenkonzentration von 10^{-6} bis 10^{-5} Mol/l (im K-H-Puffer bei pH 7,4) wird die Kalziumkonzentration zum bestimmenden Faktor für die Ausfällung von Kalziumkarbonat; das machte sich in den Vorversuchen für diese Arbeit bemerkbar:

In diesen Versuchen wurde die Funktion des Herzens (und des gesamten Langendorffapparates) durch Inotropiemessungen mit einem in die linke Herzkammer eingeführten Druckmeßballon kontrolliert. Die zunächst gewählte Kalziumkonzentration von 2,5 mMol/l im Perfusionspuffer führte sowohl zu einer raschen Verstopfung der in den Perfusionsfluß eingeschalteten Mikrofilter, als auch zu einer erheblichen und kontinuierlichen Verschlechterung der Herzleistung (Abnahme der Druckamplitude und der Druckanstiegsgeschwindigkeit). Nach Reduzierung der Kalziumkonzentration auf 1,3 mMol/l bei ansonsten gleichen Bedingungen arbeiteten die Herzen über Stunden mit fast konstanter Leistung und die Filter blieben durchgängig.

1.2. Mikrofilter

Es ist klar, daß selbst kleinste Verunreinigungen des Perfusionsmediums zur Verstopfung von Kapillaren oder auch Arteriolen und somit, neben einer Beeinträchtigung der Herzfunktion, zu einer verminderten Glykosidanreicherung in der von einem solchen Infarkt betroffenen Herzmuskelregion führen könnten. Da derartige Verunreinigungen auch noch nach einer dem Versuch vorangehenden Filterung des benötigten Puffervorrats auftreten können (z.B. durch Schlauchabrieb aus der Rollerpumpe, Staubbiederschlag aus der Raumluft), wurden die Membranfilter in den Perfusionsstrom eingeschaltet. Die Berechtigung bzw. Notwendigkeit dieser Maßnahme erwies sich an der bei Versuchsende mit bloßem Auge erkennbaren Verschmutzung der Membranen.

1.3. Perfusionsdauer

Die Digoxinaufnahme im Herzmuskelgewebe erfolgt relativ langsam; die Literaturangaben über die für eine vollständige Sättigung des Gewebes erforderliche Zeitspanne (bei einer 10^{-7} molaren Digoxinkonzentration im Medium) gehen bis zu 3 Stunden (22,37). Andererseits wird im perfundierten Langendorffherz (8) bereits nach 1 Stunde eine über 90prozentige Sättigung erreicht. Für die vorliegende Untersuchung wurde nun eine Perfusionsdauer von 90 min gewählt; dabei bestand die Vorstellung, zu diesem Zeitpunkt eventuelle, durch Chinidin verur-

sachte nennenswerte Veränderungen der Digoxinaufnahme im Herzgewebe auf jeden Fall aufdecken zu können, seien sie durch eine Beeinflussung der Aufnahmerate oder der Aufnahmekapazität bedingt.

1.4. Perfusionsrate

Die für die Langendorffpräparate gewählte Perfusionsrate lag mit 10 ml/min (entspricht einer relativen Perfusionsrate von durchschnittlich 8,8 ml/min pro g Herzgewebe) erheblich über der von anderen Arbeitsgruppen für ähnliche Zwecke verwendeten Perfusionsrate (Dutta et al. (8): 3 ml/min; Kim et al. (31): 4,6 ml/min; Stephen et al. (63): 4,5 ml/min). Die Wahl dieser hohen Perfusionsrate geht auf Untersuchungen von Arnold et al. (1) zurück: Zwischen 7,7 und 10,2 ml/min/g zeigte sich das beste Verhältnis zwischen Herzleistung, Sauerstoffangebot bzw. -verbrauch und Gefahr der Ödembildung. Die "unphysiologisch" hohe Perfusionsrate führt also unter den Bedingungen des isoliert perfundierten Herzens zu einem Optimum der Herzfunktion. Es ist anzunehmen, daß die Digoxinaufnahme, soweit sie von der Perfusionsrate abhängt (26), dadurch beschleunigt, wegen ihrer Stoffwechselabhängigkeit (vgl. nächstes Kap.) möglicherweise sogar erhöht wird.

1.5. Temperatur

Da die Digitalisaufnahme im Herzmuskel teilweise stoffwechselabhängig ist (23, 9), erschien es sinnvoll, die Versuche bei 37°C durchzuführen, zumal nicht auszuschließen ist, daß Chinidin auch oder gerade diese stoffwechselabhängige Aufnahme beeinflußt. Dutta et al. (7) berichten über eine "relativ schnelle Verschlechterung der Herzleistung" bei Temperaturen über 28°C im Langendorffherz und wählten deshalb diese niedrigere Betriebstemperatur (wie übrigens auch zahlreiche andere Autoren, diese allerdings ohne Angaben von Gründen). In den bereits erwähnten Vorversuchen für die vorliegende Arbeit machte sich eine derartige "Verschlechterung der Herzleistung" nicht bemerkbar und es wurde daher die Temperatur von 37°C beibehalten.

II. In-vivo-Langzeitversuch

Die Ergebnisse dieses Versuchs zeigen auffallende Unterschiede zu denen vergleichbarer Untersuchungen anderer Arbeitsgruppen (keine signifikanten Änderungen der Digoxin- bzw. Dpm-Konzentrationen in Serum und Gewebe unter Chinidineinfluß; Einzelheiten s. Diskussion der Ergebnisse); im folgenden Abschnitt wird diskutiert, inwieweit dafür die Methodik der vorliegenden Arbeit verantwortlich gemacht werden kann.

II.1. Applikation, Zeitpunkt der Bestimmung und Dosis der Medikamente

Die Applikationsart der Medikamente (i.p.-Injektion), der Zeitraum zwischen Applikation und Bestimmung, die Höhe ihrer Dosis und damit ihrer im Serum erreichten Konzentrationen weichen teilweise von den entsprechenden Parametern anderer Untersuchungen ab. Es finden sich jedoch in der Literatur auch Arbeiten (17,53), deren Ergebnisse die üblicherweise gefundenen Einflüsse von Chinidin auf die Digoxinkinetik zeigen, obwohl ihre Methodik derjenigen der vorliegenden Arbeit in den obengenannten Punkten entspricht.

II.2. G/S-Wert als Maßstab für die Digoxinaufnahme im Gewebe

In Kap. C.II.1. wurde der ^3H -Verteilungskoeffizient (Quotient aus: Dpm-Konzentration im Gewebe zu Dpm-Konzentration im Serum) - G/S-Wert genannt - als Maßstab für die Digoxinaufnahme im Gewebe definiert. Inwieweit diese methodische Erleichterung - man ersetzt die arbeits- und zeitaufwendige Digoxinbestimmung durch die rasche und unkomplizierte Radioaktivitätsbestimmung - zu einer ungenaueren Erfassung der wahren Digoxinverteilung zwischen Serum und Gewebe führt und damit möglicherweise sogar eventuelle Unterschiede zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe verschleiert (die in anderen Arbeiten ja gefunden wurden), soll im folgenden untersucht werden:

Bei Verwendung des G/S-Wertes als Maßstab für die Digoxinaufnahme wird von der Annahme ausgegangen, daß die ^3H -Verteilung (umfaßt ^3H -Digoxin und ^3H -Metabo-

lite) proportional zur Digoxinverteilung (jeweils zwischen Serum und Gewebe) verlaufe. Diese Annahme ist, zumindest in einem engeren Konzentrationsbereich wie hier, sicherlich berechtigt. Allerdings werden bei Ersatz des Digoxinverteilungskoeffizienten ($V_{k_{Dig}}$) durch den 3H -Verteilungskoeffizienten (G/S-Wert) zusätzliche Ungenauigkeiten in Kauf genommen, die sich aus individuellen oder auch gruppenspezifischen (s. Abb.6 S.18) Schwankungen des Konzentrationsverhältnisses von Digoxin zur Gesamtaktivität (bzw. den radioaktiven Metaboliten) im Serum und Gewebe ergeben. Diese Schwankungen fallen bei der Beurteilung der Digoxinaufnahme durch den G/S-Wert um so mehr ins Gewicht, je kleiner der Anteil des radioaktiven Digoxins an der Gesamtaktivität ist. Da nun dieser Anteil im Serum bereits sehr klein war (7 - 8%), hängt die Möglichkeit, durch die Bestimmung des G/S-Wertes eventuelle Einflüsse von Chinidin auf die Digoxinaufnahme im Gewebe zu erfassen, vom Verhältnis der 3H -Digoxinkonzentration zur gesamten 3H -Konzentration (Digoxin und Metabolite) im Gewebe ab. Zur Veranschaulichung dieses Sachverhaltes sei in einem Beispiel folgende Digoxin- und Dpm-Verteilung angenommen:

Fall A:

Dpm im Gewebe: 200/g; im Serum: 100/g; G/S = 2;

Digoxin im Gewebe: 180 ng/g (= 90% der Gesamtaktivität); Digoxin im Serum: 10 ng/g (= 10% der Gesamtaktivität); $V_{k_{Dig}} = 18$;

Gesetzt den Fall, die Digoxinaufnahme nehme unter Chinidineinfluß um 30% ab (= 54 ng/g), so resultiert daraus ein um 30% verminderter $V_{k_{Dig}}$ von 12,6, der sicherlich auch durch den dann um 27% verminderten G/S-Wert von 1,46 erfaßt werden kann ($200 - 54 = 146$; $54 = 27\%$).

Fall B:

Der Digoxinanteil an der 3H -Aktivität im Gewebe betrage bei ansonsten gleicher Digoxin- und Dpm-Verteilung nur mehr 10% (= 20 ng/g); dann ist G/S = 2 und $V_{k_{Dig}} = 2$;

Eine 30%ige Reduktion der Digoxinaufnahme (= 6 ng/g) wird nun zwar wieder in einer 30%igen Abnahme des $V_{k_{Dig}}$ sichtbar, führt aber bloß noch zu einer 3%igen Abnahme des G/S-Wertes ($200 - 6 = 194$; $6 = 3\%$), die im Rahmen der Meßgenauigkeit und der oben beschriebenen Schwankungen nicht mehr zu einer signifikanten Unterscheidung von der Kontrollgruppe ausreicht.

Diese Beispiele machen die Bedeutung des Konzentrationsverhältnisses von Digoxin zu seinen Metaboliten bei der Beurteilung der Digoxinaufnahme nach den G/S-Werten deutlich.

Es erscheint freilich ausgeschlossen, daß dieses Verhältnis im Gewebe ähnlich klein wie im Serum ist - vermutlich nicht einmal in Leber und Niere, obwohl in diesen Organen aufgrund ihrer Abbau- bzw. Ausscheidungsfunktionen die Metabolitenkonzentration höher sein dürfte als in anderen Geweben. Die nicht chlo-roformlöslichen, also polarereren Digoxinmetabolite werden in einem sehr viel ge-ringeren Ausmaß in die Zellen aufgenommen und dort gebunden als Digoxin selbst. Dolphen und Lesne (6) fanden 3 und 6 Stunden nach einer einmaligen i.v.-Gabe von 100 µg/kg ³H-Digoxin im Myokard von Meerschweinchen lediglich 3 - 4%, al-lerdings im Plasma auch nur etwa 30% wasserlösliche Digoxinmetabolite (jeweils Anteil an der Gesamtaktivität). Angaben über das Digoxin:Metabolite-Verhältnis nach chronischer Digoxinzufuhr konnten in der Literatur nicht gefunden werden; doch ist der Verdacht nicht von der Hand zu weisen, die Abnahme dieses Verhält-nisses im Plasma bzw. Serum von etwa 2,3 nach einmaliger Digoxinapplikation (6) auf etwa 0,1 nach chronischer Zufuhr (vorliegende Arbeit) müsse auch in einer spürbaren Abnahme des Verhältnisses im Gewebe resultieren. Abgesehen von der bereits getroffenen Feststellung, daß das Verhältnis von Digoxin zu seinen Metaboliten im Gewebe größer sein sollte als im Serum, erlauben die verfügba-ren Daten jedoch keine genauere Schätzung dieser Abnahme.

Die eingangs gestellte Frage, inwieweit der G/S-Wert zur Erfassung von eventu-ellen Unterschieden der Digoxinverteilung zwischen Versuchs- und Kontrollgrup-pe geeignet sei, läßt sich also zusammengefaßt so beantworten (wobei der "un-günstige" Fall eines relativ kleinen Digoxin:Metabolite-Verhältnisses von 0,66, d.h. 40% Digoxin und 60% Metabolite im Gewebe angenommen sei):

Kleine Änderungen der Digoxinaufnahme im Gewebe unter Chinidineinfluß (< 10%) können durch die Streuungen der Metabolitenkonzentrationen vollständig ver-deckt werden.

Mittlere Änderungen (10 - 35%) sollten sich zumindest als "Trends" in den G/S-Werten abzeichnen.

Große Änderungen der Digoxinaufnahme (35 - 80%, wie z.B. von Sato et al. (53) beschrieben) müßten sich auch in signifikanten Unterschieden der G/S-Werte manifestieren.

Wendet man diese Überlegungen auf die konkreten Ergebnisse des Langzeitver-suchs an, ergibt sich folgendes Bild (vgl. Kap. C.II.2. und Abb.4, S.16):

Die geringen prozentualen Änderungen der mittleren G/S-Werte unter Chinidin-einfluß (jeweils bezogen auf die mittleren G/S-Werte der Kontrollgruppe = 100%)

in Leber (- 2,6%), Niere (+ 4,1%), Lunge (- 0,8%) und Herz (+ 2,6%) können keine erheblichen (> 10%) Änderungen der Digoxinaufnahme verdecken.

In den entsprechenden Werten für Muskel (+ 14,4%) und Gehirn (+ 12,2%) zeichnet sich eine Steigerung der Digoxinaufnahme (möglicherweise bis zu 35%) ab. Der Wert für die Galle (+ 12,1%) kann aus zwei Gründen nicht in diese Überlegungen einbezogen werden: Erstens sind die individuellen Streuungen zu groß und zweitens ist das Verhältnis Digoxin:Metabolite in der Galle ähnlich klein wie im Serum (42).

Abschließend kann also festgestellt werden, daß die Unterschiede in den Ergebnissen dieser Arbeit gegenüber anderen Untersuchungen zur Chinidin-Digoxin-Wechselwirkung am Meerschweinchen tatsächlich substanzieller Natur und nicht lediglich auf methodische Ungenauigkeiten zurückzuführen sind. Die Digoxinverteilung zwischen Serum und Gewebe wird offenbar durch die Bestimmung der Radioaktivität mit ausreichender Genauigkeit erfaßt. Bestätigt und zugleich veranschaulicht wird dieser Umstand in den Abbildungen 5, 10, 11 und Tab.4 (S.17, 21,22,23): Die Korrelationen zwischen der Digoxinkonzentration im Serum und Chinidinkonzentration bzw. G/S-Werten bestehen ohne wesentliche Unterschiede auch zwischen der Dpm-Konzentration im Serum und den jeweiligen Parametern.

II.3. Chronische Medikation

Nach Ausschluß der in den letzten beiden Kapiteln diskutierten Punkte bleibt offensichtlich nur noch eine Möglichkeit, die überraschenden Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zu erklären: Der Umstand, daß der Einfluß von Chinidin auf die Digoxin- (bzw. ^3H -)verteilung erst nach 10maliger Wirkstoffapplikation über einen Zeitraum von etwa 16 Digoxinhalfwertszeiten bestimmt wurde (die Digoxinhalfwertszeit beim Meerschweinchen beträgt etwa 4,5 Stunden (18)).

Die Implikationen dieser Schlußfolgerung werden in der Diskussion der Ergebnisse behandelt.

E. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Bevor auf die Ergebnisse eingegangen wird, die mit dem Einfluß von Chinidin auf die Digoxinkinetik zusammenhängen, soll der unerwartete "Nebenbefund" der geschlechtsspezifischen Unterschiede in der Digoxinaufnahme aus den Versuchen mit dem Langendorffherz besprochen werden.

I. Geschlechtsspezifische Unterschiede der Digoxinaufnahme im Herz

In der Langendorffschen Versuchsanordnung zeigten die Herzen der weiblichen Tiere eine höhere Digoxinaufnahme als die der männlichen Tiere (vgl. Kap. C.I.1. und Tab.1, S.12) und zwar sowohl in der Versuchs- als auch (noch ausgeprägter) in der Kontrollgruppe. Ob dieser Befund durch Unterschiede in der Aufnahmekapazität oder in der Aufnahme rate (oder beides) bedingt ist, läßt sich nicht sagen, da nicht feststeht, ob die Digoxinverteilung zwischen Perfusat und Herzmuskel nach 90minütiger Perfusionsdauer vollständig abgeschlossen ist und der G/P-Wert damit seinen Maximalwert erreicht hat (vgl. Kap. D.I.3., S.25).

Der Frage, ob die Unterschiede in der Digoxinaufnahme raten- oder kapazitätsbedingt sind, gesellen sich weitere hinzu: Sind diese Unterschiede auch in vivo nachweisbar? Erstrecken sie sich auch auf andere Organe? Treten sie auch beim Menschen und anderen Spezies auf?

Keine dieser Fragen läßt sich ohne weitere, zielgerichtete Untersuchungen beantworten. Das gilt insbesondere auch für das grundsätzliche Problem, worin die Ursache für die unterschiedliche Digoxinaufnahme der Geschlechter zu suchen ist. In Bezug darauf seien jedoch einige Hinweise gegeben:

Es liegt nahe, die strukturelle Ähnlichkeit der Herzglykoside mit den Sexualhormonen in Zusammenhang mit dieser Frage zu bringen. Tatsächlich gibt es Untersuchungen, die verschiedene östrogenartige Wirkungen nach chronischer Digitaliszufuhr beschreiben (Übersicht in (28)); diese Wirkungen lassen sich allerdings möglicherweise auf eine Hemmung des Östrogenmetabolismus (und daraus resultierende erhöhte Östrogenspiegel) zurückführen. Einen anderen Aspekt zeigt eine Untersuchung von Eaton und Klaassen (10) auf: Diäthylstilböstrol und Östradiol (allerdings auch Testosteron und andere steroidale Verbindungen)

hemmen die aktive Ouabainaufnahme in isolierten Rattenhepatozyten. Schließlich ist in diesem Zusammenhang noch erwähnenswert, daß der Östrogeneinfluß auf die Erregbarkeit der Uterusmuskulatur - möglicherweise ähnlich wie die Digitaliswirkung am Herzen - durch Veränderung der Kalziumbindung an der Muskelmembran zustandekommt (16).

Diese Beispiele wollen und können die geschlechtsspezifischen Unterschiede der Digoxinaufnahme im Langendorffherz nicht erklären, sie sollen vielmehr Anregungen für weitere Untersuchungen dieses Problems geben. Es ist zwar von den Ergebnissen solcher Untersuchungen keine erhebliche klinische Relevanz zu erwarten - dazu sind die hier gefundenen Unterschiede zwischen den Geschlechtern zu klein und größere derartige Unterschiede beim Menschen wären wohl schon vor dieser Untersuchung aufgefallen - , doch könnten sie eventuell neue Aspekte im grundsätzlichen Verständnis der Kinetik und/oder der Dynamik der Herzglykoside eröffnen.

II. Einfluß von Chinidin auf die Digoxinkinetik

Zum besseren Verständnis der folgenden Diskussion erscheint es angebracht, zunächst einen Überblick über bisher durchgeführte Untersuchungen zur Chinidin-Digoxin-Wechselwirkung zu geben (soweit sie die Digoxinkinetik betreffen).

II.1. Vergleichende Literaturübersicht

Wie in der Einleitung bereits erwähnt wurde, beeinflußt Chinidin zwei voneinander unabhängige Parameter der Digoxinkinetik (vgl. (13); die Angaben in diesem Kapitel sind, soweit nicht anders ausgewiesen, dieser Übersichtsarbeit entnommen):

Zum einen wird beim Menschen unter üblichen therapeutischen Dosen beider Medikamente die Gesamtkörperclearance für Digoxin (Cl_{Dig}) auf durchschnittlich etwa die Hälfte reduziert; daraus resultiert eine anhaltende (also auch bei Dauerapplikation der Medikamente) mittlere Erhöhung der Serum-Digoxinkonzentration (SDK) auf etwa das Doppelte.

Die Abnahme der Clearance betrifft in ungefähr gleichem Ausmaß die renale ($Cl_{Dig\ r}$) wie die nicht-renale Digoxinclearance ($Cl_{Dig\ nr}$). Da die glomeruläre Filtration unverändert bleibt, liegt der verminderten Digoxinausscheidung durch die Niere offensichtlich eine Hemmung der aktiven tubulären Digoxinsekretion zugrunde (13,59). Ob diese Hemmung bei therapeutischer Serum-Chinidinkonzentration (SCK) vollständig ist und somit nicht von Chinidindosis oder SCK abhängt, wird unterschiedlich beurteilt (13,44,48,56); ebenso wird noch diskutiert, ob Chinidin die tubuläre Rückresorption von Digoxin verstärkt.

Die $Cl_{Dig\ nr}$ zeigt eine Abhängigkeit von der SCK (44); dabei dürfte der (beim Menschen allerdings nur eine geringe Rolle spielende) Metabolismus von Digoxin durch Chinidin nicht behindert werden (45). Ansonsten sind über die chinidinbedingte Verminderung der nicht-renalen Digoxinausscheidung beim Menschen keine Einzelheiten bekannt.

Der zweite wesentliche von der Chinidin-Digoxin-Wechselwirkung betroffene pharmakokinetische Parameter von Digoxin ist sein Verteilungsvolumen (V_{Dig}). Es wird durch Chinidin verkleinert, allerdings nicht mit so hoher Inzidenz wie die Clearance.

Pedersen et al. (44) zeigten in einer Langzeitstudie an Herzpatienten, daß die chinidinbedingte Einschränkung des V_{Dig} auch unter Dauermedikation besteht, von der SCK abhängt (positive Korrelation) und überhaupt erst bei einer SCK über etwa 2,5 µg/ml nennenswerte Ausmaße annimmt. In den vorliegenden Studien findet sich eine 20 - 40%ige Reduktion des V_{Dig} .

Als zugrundeliegender pharmakokinetischer Mechanismus wird fast ausnahmslos eine Verdrängung von Digoxin aus der Gewebefindung durch Chinidin angenommen. Prinzipiell könnte davon sowohl die spezifische Digoxinbindung an die membranständige Na-K-ATPase wie die unspezifische Bindung an verschiedene zelluläre Strukturen betroffen sein. Zwar zeigten therapeutische Chinidinkonzentrationen keinen Einfluß auf die Digoxinbindung an die Na-K-ATPase in Membranfraktionen verschiedener Gewebe in vitro, doch wurde an intakten Erythrozyten die spezifische Digoxinbindung schon in 10^{-6} bis 10^{-5} molaren Chinidinkonzentrationen leicht gehemmt. Das Ausmaß dieser Bindungshemmung an spezifischen Digitalisrezeptoren ist allerdings viel zu gering (vgl.(12)), um zu einer auch nur 20%igen Verringerung des V_{Dig} führen zu können.

Somit müßte diese Verringerung im wesentlichen durch eine Verdrängung aus der unspezifischen Gewebefindung verursacht werden. Als Indiz für die Richtigkeit dieser Annahme wurde der Befund eines um 23% signifikant verringerten Digoxin-Verteilungskoeffizienten ($V_{\text{K Dig}}$) im Skelettmuskel von Herzpatienten gewertet, nachdem diese Patienten zusätzlich zur Digoxindauermedikation Chinidin bekommen hatten ($V_{\text{K Dig}}$ vor Chi: 43; nach 3 Tagen Dig + Chi: 33; (58)). Allerdings fanden dieselben Autoren in einer Folgearbeit (57) eine ähnliche (freilich nicht signifikante) Abnahme des $V_{\text{K Dig}}$ im Muskelgewebe nach einer nicht-chinidinbedingten Erhöhung der SDK (Verdoppelung der täglichen Digoxindosis). In einer weiteren Untersuchung (27) konnten sie zeigen, daß der $V_{\text{K Dig}}$ im Muskel auf die Dauer unverändert bleibt, wenn nach Beginn der Chinidinmedikation (bei Digoxindauertherapie) die Digoxinerhaltungsdosis soweit reduziert wird, daß die SDK unter gemeinsamer Chinidin- und Digoxingabe der SDK vor Beginn der Chinidinmedikation entspricht ($V_{\text{K Dig}}$ vor Chi: 35,4; 24 h nach Beginn von Chi: 29,0; nach 14 Tagen Chi + Dig (reduziert): 38,1).

Aus diesen Befunden schließen Jogestrand et al. (27), daß die Minderung des V_{Dig} unter Chinidineinfluß nicht durch eine Verdrängung von Digoxin aus seiner Bindung, sondern durch die beschränkte Digoxinbindungskapazität des Gewebes bedingt ist, die sich nach der Erhöhung der SDK - durch Chinidin oder anderweitig hervorgerufen - offenbart.

Dieser Schluß erscheint folgerichtig - wenn man von der stillschweigenden Annahme ausgeht, daß die Änderung der Digoxinaufnahme durch eine Änderung der Bindung verursacht werden müsse. Es bliebe jedoch durch entsprechende Untersuchungen erst noch nachzuweisen, daß die Digoxinbindungskapazität nicht nur im Skelettmuskel (wenngleich ein bedeutendes Digoxinreservoir, repräsentiert er nicht das gesamte V_{Dig}), sondern auch in anderen menschlichen Geweben tatsächlich schon bei so niedrigen Konzentrationen ($1 - 2 \times 10^{-9}$ molar) deutliche Anzeichen der Sättigung zeigt.

Beim Meerschweinchen ist das jedenfalls nicht so (42) und dennoch findet sich in dieser Spezies (qualitativ) dieselbe chinidinbedingte Verminderung des V_{Dig} wie beim Menschen.

Zudem kann die These von Jogestrand et al. die Ergebnisse aus der Arbeit von Doherty et al. (5) oder auch aus den vorliegenden Versuchen mit dem Langendorffherz (durch Chinidin verminderte Digoxinaufnahme bei gleichen Digoxinkonzentrationen im Serum bzw. Medium in Versuchs- und Kontrollgruppe) nicht erklären.

Die Diskussion der möglichen Ursachen für die Verkleinerung des V_{Dig} soll nun aber bis auf weiteres zurückgestellt werden, da sich mit der Erwähnung von Tierversuchen die Frage erhebt, inwieweit die Chinidin-Digoxin-Wechselwirkung bei Tieren derjenigen beim Menschen vergleichbar ist.

Die Durchsicht einschlägiger Arbeiten ergibt - um ein Resümee vorwegzunehmen - keine stichhaltigen Argumente für die Annahme, daß sich der Chinidineinfluß auf die Digoxinkinetik in Tieren grundsätzlich von dem an Menschen beobachteten unterscheidet. Wenn auch Faktoren wie primäre speziesspezifische Unterschiede in der Digoxinkinetik, aber auch die erhebliche Variabilität der Versuchsbedingungen quantitative Vergleiche zwischen Untersuchungen am Menschen und an Tieren weitgehend ausschließen, so ist doch die Qualität der Chinidin-Digoxin-Wechselwirkung in allen untersuchten Spezies offensichtlich identisch.

Sogar bei der extrem digitalisunempfindlichen Ratte, von der man vielleicht am ehesten ein abweichendes Verhalten erwarten könnte, führt Chinidinkoadministration zu einem erheblichen Anstieg der SDK (3,33,49).

Parallel dazu findet sich in zahlreichen Geweben eine Minderung der Digoxinaufnahme (3,49). (Es muß jedoch darauf hingewiesen werden, daß in einigen Arbeiten (4,32,49) die Autoren selber das nicht so sehen, da sie die - mehr oder minder - unveränderten Gewebekonzentrationen von Digoxin als Maßstab für die Digoxinaufnahme im Gewebe betrachten. Eine bei erhöhter SDK unveränderte Gewebekonzentration bedeutet jedoch eine Reduktion der Digoxinaufnahme im Gewebe.

An Hunden wurden vornehmlich Langzeitstudien unter Digoxin- und Chinidindauerapplikation durchgeführt (4,5,40,41,49,61,66). Mit einer Ausnahme wurden dabei anhaltend und signifikant erhöhte SDK-Werte gefunden. Nur in einer Untersuchung (5) führte Chinidin nicht zu einer Erhöhung der SDK, möglicherweise aufgrund der niedrigen Chinidingaben (24 mg pro Hund und Tag).

Auch die Einzeldosisgabe der Medikamente zeitigt einen Anstieg der SDK, ohne jedoch zwangsläufig die Cl_{Dig} zu ändern (19). In 3 anderen Arbeiten fand sich allerdings eine signifikante Einschränkung der Gesamtkörper- (66) bzw. der renal Digoxinclearance (40), wobei wieder die tubuläre Digoxinsekretion vermindert, eventuell auch die Reabsorption verstärkt zu sein scheint (20).

Auch im Hund wird V_{Dig} verkleinert (19,66), was durch eine verringerte Digoxinaufnahme in verschiedenen Geweben veranschaulicht wird (4,5).

Die Ergebnisse von Doherty et al. (5) und Gibson & Nelson (19) erwecken den Eindruck, daß beim Hund, im Gegensatz zum Menschen (44), die Digoxinaufnahme im Gewebe bzw. das Verteilungsvolumen schon durch geringere Chinidinkonzentrationen beeinflusst werden als die Clearance.

Schließlich finden sich auch beim Meerschweinchen dieselben Auswirkungen von Chinidin auf die Digoxinkinetik wie in den bisher beschriebenen Spezies:

Die SDK steigt unter gleichzeitiger Digoxin- und Chinidingabe gegenüber Digoxin kontrollen deutlich - wenn auch durchschnittlich in einem geringeren Ausmaß als beim Menschen - an (17,18,31-33,53-55). Nach Sato et al. (53) sind dabei renale und biliäre Digoxinclearance signifikant verringert. Während die Ergebnisse von Schäfer et al. (54,55) sowie der vorliegenden Arbeit (vgl. Kap. E.II.5.) gegen eine Beeinträchtigung des Digoxinmetabolismus durch Chinidin sprechen, verzeichnen Sato et al. (53) eine - allerdings nicht signifikante - Abnahme der metabolischen Digoxinclearance. Auf diesen Widerspruch wird in Kap. E.II.5. näher eingegangen.

Auch die intestinale Digoxinausscheidung, die vorwiegend durch eine aktive Sekretion vonstatten geht (genauso wie bei Hund, Mensch und Ratte (39)), kann durch Chinidin gehemmt werden (54,55).

Wie in den anderen Spezies ruft Chinidin im Meerschweinchen ebenfalls eine Verkleinerung des V_{Dig} hervor (17,18,53), die sich auch in einer verringerten Digoxinaufnahme im Gewebe widerspiegelt (17,32,53-55).

Es wurden hier zahlreiche Untersuchungsergebnisse zur Chinidin-Digoxin-Wechselwirkung relativ ausführlich dargestellt; alle diese Ergebnisse sprechen für die Annahme, daß Chinidin die Digoxinkinetik in so verschiedenen Spezies wie Mensch, Ratte, Hund und Meerschweinchen in derselben Art und Weise beeinflusst: Digoxinclearance und -verteilungsvolumen werden verringert, der Digoxinspiegel im Serum steigt an.

Es wird daher in der weiteren Diskussion von der Annahme ausgegangen, daß die Befunde an unterschiedlichen Spezies grundsätzlich vergleichbar sind und damit Tierversuche, speziell die vorliegende Arbeit, Rückschlüsse auf die Verhältnisse beim Menschen zulassen. Einschränkend muß aber, besonders im Hinblick auf die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, festgestellt werden, daß diese Auswirkungen von Chinidin auf die Digoxinkinetik bei chronischer Medikation bisher nur an Mensch und Hund nachgewiesen wurden.

Bemerkenswert erscheint, daß die Verringerung der Cl_{Dig} offenbar im wesentlichen durch eine Hemmung der aktiven tubulären Digoxinsekretion zustandekommt. Da auch an der Digoxinausscheidung durch die Leber (10,36,46) und den Darm (39, 55) aktive Transportmechanismen beteiligt sind und die Digoxinausscheidung durch diese Organe ebenfalls durch Chinidin beeinträchtigt wird, liegt die Vermutung nahe, daß der Chinidineinfluß auf die Digoxinclearance grundsätzlich auf eine Hemmung aktiver Digoxintransportmechanismen zurückzuführen ist.

Die Ursache für die Reduktion des V_{Dig} unter Chinidineinfluß liegt nach allgemeiner Auffassung in der Eigenschaft des Chinidins begründet, Digoxin aus seiner Bindung im Gewebe zu verdrängen; alternativ dazu glauben Jogestrand et al. (27), daß sich nach einer chinidinbedingten Erhöhung der SDK lediglich die begrenzte Digoxinbindungskapazität menschlichen Gewebes (insbesondere des Skelettmuskels) erweise.

Unter Bezugnahme auf die hier nochmals zusammengefaßten Erkenntnisse aus bisherigen Untersuchungen zur Chinidin-Digoxin-Wechselwirkung sollen nun die Ergebnisse aus der vorliegenden Arbeit besprochen werden. Begonnen wird dabei mit der Diskussion des Chinidineinflusses auf die Gewebefindung von Digoxin, da sich daraus wesentliche Schlußfolgerungen auf grundsätzliche Mechanismen der Chinidin-Digoxin-Wechselwirkung ergeben.

II.2. Einfluß von Chinidin auf die Gewebebindung von Digoxin

Auf den ersten Blick scheinen die Ergebnisse aus den Versuchen mit dem Langendorffherz mit der These vereinbar zu sein, daß Digoxin durch Chinidin aus seiner Gewebebindung verdrängt werde:

Nach 90minütiger Perfusion mit 78 ng/ml Digoxin und 1,4 µg/ml Chinidin war die mittlere Digoxinaufnahme in den Herzen der weiblichen Versuchstiere signifikant, in denen der männlichen immer noch spürbar, wenn auch nicht signifikant, verringert (gegenüber Digoxinkontrollen; vgl. Tab.1 S.12).

Der geschlechtsspezifische Unterschied ist zwar befremdlich, da sich auch an männlichen Meerschweinchen eine ganz erhebliche chinidinbedingte Einschränkung der Digoxinaufnahme im Herzgewebe finden läßt (53), spricht aber noch nicht gegen die Annahme der Digoxinverdrängung durch Chinidin. In Übereinstimmung mit dieser Annahme ließe sich die größere Chinidinaufnahme der weiblichen Herzen (vgl. Tab.2 S.13) als Ursache für die größere Einschränkung der Digoxinaufnahme verstehen.

Einige Zweifel an der "Digoxinverdrängungsthese" erheben sich allerdings, wenn man die Korrelation zwischen Digoxinaufnahme (G/P-Wert) und Chinidinkonzentration im Gewebe betrachtet (vgl. Abb.2 S.14):

Es geht noch an, daß sich bei den weiblichen Versuchstieren keine signifikante Korrelation dieser beiden Parameter zeigt; doch die bei den männlichen Tieren gefundene positive Korrelation widerspricht völlig der Erwartung, nach der die Digoxinaufnahme mit steigenden Chinidinkonzentrationen abnehmen sollte (falls Chinidin Digoxin aus seiner Bindung im Gewebe verdrängt).

Gegen diesen Befund läßt sich vielleicht einwenden, daß eine aus 4 Wertepaaren errechnete Korrelation nicht unbedingt beweiskräftig sei. Doch die Ergebnisse des in-vivo-Langzeitversuchs bestätigen die Zweifel an der "Digoxinverdrängungstheorie":

4 Stunden nach der letzten von 10 i.p.-Injektionen (Versuchsgruppe: jeweils 230 µg/kg Digoxin - teilweise radioaktiv markiert - und 30 mg/kg Chinidin; Kontrollgruppe: Digoxin und NaCl-Lösung) fanden sich zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe keine signifikanten Unterschiede in den mittleren G/S-Werten (= ^3H -Verteilungskoeffizienten) verschiedener Gewebe (vgl. Abb.4 S.16). Daß damit auch die Digoxinverteilungskoeffizienten ($V_{k_{\text{Dig}}}$) unter Chinidineinfluß nicht

deutlich verringert sein können, hat die Diskussion in Kap. D.II.2. gezeigt. Das bedeutet also, daß Digoxin aus keinem der untersuchten Organe (die ja den größten Teil des V_{Dig} repräsentieren) in nennenswertem Umfang verdrängt worden sein kann.

Für das Fehlen dieser Chinidinwirkung können anscheinend weder die aktuellen Digoxin- noch die Chinidinkonzentrationen im Serum verantwortlich gemacht werden (etwa, weil sie zu niedrig wären), wie ein Vergleich mit der Arbeit von Sato et al. (53) zeigt: Dort fanden sich 6 Stunden nach einer Einmaldosis von 250 µg/kg Digoxin und 25 mg/kg Chinidin (praktisch dieselbe Dosierung wie in der vorliegenden Untersuchung, aber i.v.-Applikation) deutlich niedrigere Serumspiegel von Digoxin und Chinidin, gleichzeitig aber eine erhebliche Einschränkung der Digoxinaufnahme in verschiedenen Organen (gegenüber Digoxinkontrollen).

In der vorliegenden Arbeit findet sich von diesem hemmenden Chinidineinfluß nichts mehr, die G/S-Werte von Muskel und Gehirn (vgl. Abb.4 S.16) zeigen eher eine entgegengesetzte Tendenz: Eine Zunahme unter Chinidinkoadministration. Zudem findet sich für alle Organe (außer dem Gehirn) eine positive Korrelation zwischen G/S-Wert und SCK (die allerdings nur für G/S-Niere signifikant ist; vgl. Abb.9 und Tab.3 S.20): Mit steigender Chinidinkonzentration steigt auch die Digoxinaufnahme.

Bemerkenswerterweise sind jedoch die Korrelationen zwischen Digoxinkonzentration (SDK) und G/S-Werten in der Versuchsgruppe noch wesentlich enger (vgl. Abb.10,11 S.21,22 und Tab.4 S.23). Das deutet darauf hin, daß der primäre Zusammenhang derjenige zwischen SDK und G/S-Werten ist. Der Zusammenhang zwischen SCK und G/S-Werten ergibt sich vermutlich sekundär aus der ebenfalls bestehenden Korrelation zwischen SCK und SDK, auf die in Kap. E.II.5. noch näher eingegangen wird.

Die Korrelationskoeffizienten für die Beziehung der SDK zu den G/S-Werten sind zwar nur in Leber und Niere signifikant, zeigen aber auch in den anderen Organen so auffällige Unterschiede zu denen der Kontrollgruppe, daß auch in diesen Organen (Lunge, Herz, Muskel, Hirn) auf Veränderungen der Digoxinaufnahme geschlossen werden muß.

Die "normalerweise" zu erwartenden Verhältnisse für die Digoxinaufnahme in diesem Konzentrationsbereich (ca. $1 - 3 \times 10^{-8}$ Mol/l) finden sich in der Kontrollgruppe: Es besteht keine signifikante Korrelation zwischen G/S-Werten und

SDK, d.h. die Digoxinkonzentrationen im Gewebe steigen und fallen etwa proportional zur SDK; das Verhältnis der beiden Konzentrationen zueinander - das ja als G/S-Wert den Maßstab für die Digoxinaufnahme im Gewebe darstellt - bleibt dabei weitgehend unverändert. Aus den fast durchwegs negativen Vorzeichen der Korrelationskoeffizienten läßt sich allenfalls eine leicht sinkende Tendenz der Digoxinaufnahme (bei steigender SDK) ablesen, die auf die zunehmende Sättigung spezifischer Digoxinbindungsstellen zurückzuführen sein dürfte (23,37). - Demgegenüber fallen die entsprechenden Werte der Versuchsgruppe um so mehr ins Auge: Es bestehen deutliche, teilweise hochsignifikante Korrelationen zwischen G/S-Werten und SDK. Offensichtlich werden diese Änderungen der Digoxinaufnahme zwar durch Chinidin hervorgerufen, in ihrem Ausmaß aber durch die Höhe der SDK bestimmt. Ganz besonders muß dabei hervorgehoben werden, daß die Digoxinaufnahme in den meisten Organen mit steigender Digoxinkonzentration zunimmt; nur im Gehirn ist die Korrelation zwischen G/S-Wert und SDK negativ.

Wollte man diese Befunde nach wie vor mit einem Einfluß von Chinidin auf die Gewebebindung von Digoxin erklären, so müßte die ursprüngliche "Verdrängungstheorie" etwa folgendermaßen abgewandelt werden:

Chinidin entfaltet zunächst - nach Einmaldosis, im Kurzzeitversuch - einen hemmenden Einfluß auf die Digoxinbindung im Gewebe (= Verdrängung). Unter Dauermedikation verliert sich diese Hemmung, es tritt eine Kompensation, teilweise geradezu eine Überkompensation auf.

Für diese - hypothetische - Bindungsänderung, die kompensatorische Zunahme der Bindung, käme wohl nur eine, als halbwegs plausibel einzuschätzende Ursache in Betracht: Eine Neubildung von Digoxinbindungsstellen.

Die Versuchsergebnisse von Werdan (und anderen Arbeitsgruppen; Literatur bei Werdan (65)) lassen diese Annahme zunächst nicht völlig abwegig erscheinen: Chronische Digoxinzufuhr kann verschiedene Zellarten zur Neubildung von Na-K-ATPase-Molekülen - den spezifischen Digitalisbindungsstellen - anregen. Dadurch wird die digitalisbedingte Hemmung des Na- und K-Transportes kompensiert.

Die großen Unterschiede in der Digoxinaufnahme, die Sato et al. (53) zwischen Versuchs und Kontrollgruppe gefunden haben, können jedoch durch eine Vermehrung der spezifischen Bindungsstellen wohl kaum kompensiert werden. Eine Zunahme der nicht-spezifischen Bindungsstellen dagegen erscheint überhaupt ausgeschlossen, da deren Funktionen weder durch die Assoziation noch die Dissoziation von

Digoxin oder Chinidin beeinflußt werden dürften, sie damit sozusagen gar keinen Grund haben, sich zu vermehren.

Die diskreten Unterschiede der Digoxinaufnahme zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe im vorliegenden Langzeitversuch könnten allerdings - was ihr Ausmaß anbelangt - durch Veränderungen der spezifischen Digoxinbindung verursacht werden. Dagegen spricht freilich, daß dann der Einfluß von Chinidin auf diese spezifische Bindung im Gehirn unter einem anderen Vorzeichen stünde, als in den restlichen untersuchten Geweben; gänzlich unverständlich bliebe dabei, wie es zu einer Korrelation zwischen Bindung und SDK kommen sollte. Schließlich läßt auch die positive Korrelation zwischen SDK bzw. SCK und den G/S-Werten für die Galle annehmen, daß die chinidinbedingten Veränderungen der Digoxinaufnahme im Langzeitversuch nicht durch Veränderungen der Digoxinbindung verursacht werden.

Die "Verdrängungstheorie" erscheint also in jeder Form ungeeignet, die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zu erklären.

Bei genauerer Betrachtung werfen aber auch die Resultate anderer Untersuchungen Fragen auf, die diese Theorie - wenn überhaupt - nur sehr unbefriedigend beantworten kann:

Warum beispielsweise führt die Chinidinperfusion eines mit Digoxin vorperfundierten (also "vorgeladenen") Langendorffherzens (32) nicht zu einer erhöhten Digoxinfreisetzung, wie man es doch nach der "Verdrängungstheorie" zweifellos erwarten sollte?

Doherty et al. (5) führen die chinidinbedingte signifikante Zunahme des Digoxingehalts im Gehirn von Hunden auf eine "Rückverteilung aus den Hauptdepots" zurück, aus denen Digoxin durch Chinidin verdrängt wurde; im Gehirn findet wohl auch eine Verdrängung statt, die aber wegen der langsamen Wiederabgabe von Digoxin aus dem Gehirn an den Kreislauf zum Zeitpunkt der Untersuchung nicht feststellbar war. Angesichts fehlender Unterschiede in der SDK (zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe) bleibt dabei aber unklar, wie es eigentlich zu der Erhöhung der Digoxinkonzentrationen im Gehirn kommen konnte: Die Digoxinaufnahmerate des Gehirns ist nämlich so gering (vgl. die Angaben der Verfasser selbst), daß eine offensichtlich nur vorübergehende SDK-Erhöhung - in der Folge der Digoxinverdrängung aus den Hauptdepots - alleine wohl kaum zu einer 50%igen Zunahme des Digoxingehalts im Gehirn führen sollte.

Etwas differenzierter gehen Sato et al. (53) bei der Beurteilung ähnlicher Befunde am Meerschweinchen vor: 1 Stunde nach Digoxin- und Chinidinapplikation zeigte der $V_{k_{Dig}}$ im Gehirn eine 90%ige Zunahme, 6 Stunden danach jedoch eine 50%ige Abnahme (jeweils gegenüber Digoxinkontrollen). Sato et al. vermuten im Plexus chorioideus einen aktiven Transportmechanismus, der Digoxin aus dem Gehirn "ausscheidet" und durch Chinidin gehemmt werden kann; daher die erhebliche Zunahme des $V_{k_{Dig}}$ 1 Stunde nach Applikation. Die im weiteren Verlauf erfolgende Abnahme des $V_{k_{Dig}}$ soll dann durch eine Verdrängung von Digoxin aus seiner spezifischen Bindung zustandekommen. - Das erscheint jedoch kaum haltbar: Mag auch die spezifische Bindung bei so niedrigen Digoxinkonzentrationen einen beträchtlichen Teil der Gesamtbindung ausmachen, nach einer 50%igen Reduktion der Gesamtbindung durch Chinidin - auf Kosten der spezifischen Digoxinbindung - dürften kaum noch spezifische Bindungsstellen für Digoxin übrig bleiben. Ein derartiges Ausmaß der Digoxinverdrängung von der Na-K-ATPase ist - auch beim Meerschweinchen (31) - völlig ausgeschlossen (s. auch Kap. E.II.1.).

Schließlich soll in diesem Zusammenhang nochmals die bereits erwähnte Studie von Jogestrand et al. (27) angeführt werden. Wenn auch die Schlußfolgerungen dieser Autoren über die Digoxinkinetik im menschlichen Organismus anzuzweifeln und auf die Verhältnisse beim Meerschweinchen, speziell die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung mit dem Langendorffherz (vgl. Kap. E.II.1.) mit Sicherheit nicht anzuwenden sind, so zeigt diese Arbeit doch, daß - auch beim Menschen - die Gewebefixierung von Digoxin (wenigstens im Skelettmuskel) unter Chinidinmedikation nicht verändert sein muß. Und das, obwohl während dieser Studie die mittlere SCK der Versuchspersonen (3,6 µg/ml) deutlich höher war als diejenige, die nach Pedersen et al. (33) für eine signifikante Einschränkung des V_{Dig} nötig sein soll (2,6 µg/ml).

Zusammenfassend läßt sich also feststellen, daß bereits frühere Arbeiten Ergebnisse aufweisen, die mit der Annahme kaum vereinbar sind, daß Chinidin Digoxin aus seiner Gewebefixierung verdrängt. Noch auffälliger werden diese Widersprüche in den Resultaten der vorliegenden Versuche.

Es scheint daher angebracht, eine alternative Hypothese zu entwickeln, die den Einfluß von Chinidin auf die Digoxinverteilung besser erklären kann. Im Hinblick auf andere mögliche "Ansatzpunkte" der Chinidineinwirkung soll zunächst näher auf die Faktoren eingegangen werden, die die Digoxinverteilung zwischen Serum und Gewebe bestimmen.

II.3. Determinanten der Verteilung von Digoxin zwischen Serum und Gewebe

Die Verteilung eines Medikaments zwischen Serum und Gewebe kann - stark vereinfacht - etwa folgendermaßen betrachtet werden:

Extrazellulärraum (= Serum) und Intrazellulärraum (= Gewebe) werden durch die Zellmembran voneinander getrennt. Die "Barriere" der Zellmembran ist jedoch, zumindest für viele Medikamente, darunter auch die Herzglykoside, nicht unüberwindlich: Sie können sie durchdringen, also sowohl aus dem Serum (Extrazellulärraum) in das Gewebe (Intrazellulärraum), wie auch umgekehrt, aus der Zelle wieder in das Serum gelangen. Im Verlauf dieses Austauschs finden sich im Gewebe oft höhere Konzentrationen des Medikaments als im Serum.

Wodurch werden aber nun diese Vorgänge des Ein- und Ausstroms sowie der Akkumulation eines Medikaments im Gewebe determiniert ?

Nach den heutigen Vorstellungen durchdringen die meisten Medikamente Zellmembranen mittels passiver Diffusion; dabei ist die treibende Kraft, die Ausmaß und Richtung des (Netto-)Flusses bestimmt, die Differenz der freien (= ungebundenen) Konzentrationen auf beiden Seiten der Membran, also etwa im Extrazellulärraum und im Intrazellulärraum. Die Geschwindigkeit des Flusses, die Permeationsrate, ist der Höhe der Konzentrationsunterschiede proportional und wird außerdem durch Eigenschaften des Medikaments (Lipidlöslichkeit, Größe etc.) sowie der Membran (Dicke, Zusammensetzung, Porenanteil etc.) bestimmt. (Auf die pH-Abhängigkeit der Verteilung von Medikamenten, die bei physiologischen pH-Werten dissoziiert vorliegen, braucht hier nicht eingegangen zu werden, da diese Verhältnisse auf die Herzglykoside nicht zutreffen.)

Sobald das Medikament den Intrazellulärraum erreicht, wird es teils an verschiedene Strukturen gebunden, teils verbleibt es in Lösung (wie im Serum stellt sich rasch ein Gleichgewicht zwischen gebundenem und freiem Anteil ein), teils diffundiert es wieder durch die Zellmembran zurück - die "Durchlässigkeit", die Permeabilität der Zellmembran besteht in beiden Richtungen und ist auch in beiden Richtungen gleich groß.

Solange aber die freie Konzentration außen höher als innen ist, findet - als Nettowirkung - ein Einstrom statt. Umgekehrt zeigt sich ein Nettoausstrom, wenn die freie Konzentration im Serum bzw. Extrazellulärraum unter die des Gewebes bzw. des Zellinneren absinkt. Haben die freien Konzentrationen einen Gleichstand erreicht, sind Ein- und Ausstrom im Gewebe gleich groß, es herrscht ein

Verteilungsgleichgewicht.

In diesem Gleichgewichtszustand (oder in seiner Nähe) hängt das Ausmaß der Gewebeaufnahme des Medikaments, ausgedrückt durch das Verhältnis der Gesamtkonzentration im Gewebe zu der im Serum (= V_k-Wert), vom Ausmaß der Bindung an verschiedene Gewebestrukturen bzw. das Serumweiß ab. Ändern sich die Bindungsverhältnisse bei einem Anstieg oder Abfall der Konzentrationen, so ändern sich damit auch die Verteilungskoeffizienten. Im allgemeinen bleibt jedoch im Verteilungsgleichgewicht das Verhältnis der Gewebe- zu den Serumkonzentrationen in weiten Konzentrationsbereichen konstant und nimmt erst bei großen Konzentrationssteigerungen langsam ab, was dann auf die zunehmende Sättigung der Gewebebindung zurückzuführen ist.

Die hier gegebene Beschreibung der Verteilung zwischen Serum und Gewebe gilt für Stoffe, die die Zellmembran nur durch passive Diffusion durchdringen. Es ist offensichtlich, daß mit dieser Beschreibung zwar die Ergebnisse aus der Kontroll-, nicht jedoch diejenigen aus der Versuchsgruppe in Einklang gebracht werden können (vgl. die Gegenüberstellung S.40,41). Da kaum anzunehmen ist, daß Art und Weise der Digoxinaufnahme bzw. -wiederabgabe im Gewebe unter Chindinwirkung grundsätzlich verändert werden, ergibt sich daraus der Verdacht, daß diese Vorgänge möglicherweise nicht - oder nicht ausschließlich - durch passive Diffusion vonstattengehen und damit auch die Höhe der Digoxinaufnahme im Gewebe nicht nur durch die Gewebebindung bestimmt wird.

Im einzelnen ist tatsächlich bis heute noch nicht geklärt, inwieweit Herzglykoside Zellmembranen nur durch passive Diffusion oder auch durch Vermittlung von "Carriern" überwinden.

Für den Vorgang der Diffusion als Hauptmechanismus spricht zunächst, daß die Glykoside weitgehend gemäß dem Grad ihrer Lipidlöslichkeit in die Gewebe aufgenommen werden. So wird beim Menschen das polare Strophantin bekanntlich nur in geringem Umfang aus dem Darm resorbiert, das lipophile Digitoxin dagegen fast vollständig. Digoxin nimmt in Bezug auf Lipidlöslichkeit wie Resorbierbarkeit eine Mittelstellung ein. Auch bei der Aufnahme in andere Gewebe zeigt sich im großen und ganzen diese Abhängigkeit von der Polarität des Glykosidmoleküls.

In anderen Spezies finden sich allerdings Abweichungen von dieser, an der Polarität der Herzglykoside orientierten Reihenfolge der Resorbierbarkeit. So wird z.B. Ouabain im Darm des Meerschweinchens besser resorbiert als Digoxin (14).

Der Grund dafür ist in dem Umstand zu sehen, daß Herzglykoside nicht nur durch Diffusion, sondern auch durch Vermittlung eines aktiven Transportmechanismus aus dem Darmlumen resorbiert werden (auch bei Mensch, Hund und Ratte). Dieser Transportmechanismus ist in der Darmmukosa lokalisiert und wurde durch die Untersuchungen von Lauterbach und Mitarbeitern (39) eingehend charakterisiert. Hier interessiert jedoch nur soviel, daß sowohl die Aufnahme in die Zelle wie auch die Wiederabgabe aus der Zelle durch einen aktiven Transportprozeß mit begrenzter Transportkapazität bewerkstelligt werden und die Höhe der intrazellulären Glykosidkonzentrationen offensichtlich weniger von der Bindung an Zellbestandteile, sondern vom Zusammenspiel der beiden "Glykosidpumpen" bestimmt wird. Das gesamte Transportsystem kann in beiden Richtungen, also sowohl als Resorptions- wie auch als Sekretionssystem arbeiten (die weitaus höheren Transportraten bestehen allerdings bei der Sekretion). Die Affinität dieses Transportsystems zu den einzelnen Glykosiden ist verschieden, dabei finden sich wiederum Unterschiede zwischen den einzelnen Spezies.

Wie schon erwähnt, erfolgen aber Aufnahme und Wiederabgabe der Herzglykoside in den Zellen der Darmmukosa nicht nur durch aktiven Transport, sondern - nach den eingangs beschriebenen Prinzipien - auch durch passive Diffusion.

In den Ausscheidungsorganen Leber und Niere sind ebenfalls aktive Transportmechanismen für die Herzglykoside nachgewiesen:

In der Leber von Ratten führt z.B. eine aktive Ouabainaufnahme zu einer die Serumkonzentrationen weit übertreffenden intrazellulären Akkumulation dieses Glykosids, ohne daß eine nennenswerte Bindung an Zellstrukturen auftritt (36, 60). Die Ouabainaufnahme rate kann u.a. durch Chinin (und natürlich andere Glykoside) verringert werden (10). Ob auch die Wiederabgabe der Herzglykoside aus den Leberzellen in die Galle vorwiegend durch einen aktiven Transport oder Diffusion vor sich geht, scheint noch nicht völlig geklärt (36,51,60).

Wie ja bereits in Kap. E.II.1. ausgeführt, kommt die Einschränkung der renalen Digoxinclearance im wesentlichen durch eine Hemmung der aktiven Digoxinsekretion in der Niere zustande (13,59). Doch auch hier ist nicht bekannt, ob der aktive, die Sekretion bestimmende Schritt bei der Aufnahme oder der Wiederabgabe aus der Tubuluszelle liegt. Jedenfalls kann die Digoxinaufnahme des Nie-

rengewebes insgesamt - wenigstens bei der Ratte - in vitro durch verschiedene Stoffwechselblocker oder Sauerstoffentzug signifikant vermindert werden (29), was also zumindest für die Aufnahme einen aktiven Transportmechanismus vermuten läßt. Die aktive tubuläre Digoxinsekretion kann - außer durch Chinidin - auch durch Spironolacton gehemmt werden (62); in diesem Zusammenhang ist erwähnenswert, daß nach Pfeiffer et al. (46) auch eine pharmakokinetische Wechselwirkung zwischen Chinidin und Spironolacton besteht.

In Intestinum, Leber und Niere ist also die Existenz aktiver Transportmechanismen für Digoxin (und andere Herzglykoside) eindeutig nachgewiesen. Sie dürften Zeitverlauf und Ausmaß der Digoxinaufnahme (und -wiederabgabe) wesentlich mitbestimmen. - Das schließt jedoch nicht aus, daß das relativ lipophile Digoxin auch durch Zellmembranen diffundiert und in einem erheblich größeren Umfang als beispielsweise Ouabain im Gewebe gebunden wird.

Die Verhältnisse der Digoxinaufnahme in anderen Organen bzw. Geweben sind leider nur sehr unzulänglich erforscht. Nichtsdestotrotz geben verschiedene Ergebnisse diesbezüglicher Untersuchungen Anlaß zu der Annahme, daß sich das Vorkommen aktiver Digitalistransportmechanismen nicht auf die obengenannten Organe beschränkt:

So wird z.B. im glatten Darmmuskel des Meerschweinchens die Digitoxinaufnahme durch relativ geringe Temperatursenkungen in einem Ausmaß eingeschränkt, das keinesfalls nur auf eine Verringerung der spezifischen Bindung oder gar der Diffusionsrate zurückgeführt werden kann (21).

Dasselbe gilt für die Verminderung der Digitoxinaufnahme im Langendorffherz (Meerschweinchen) unter Koadministration von Phloretin, Phlorizin oder Jodessigsäure (9).

Für die Annahme, daß ein aktiver Glykosidtransport tatsächlich ein ubiquitäres Phänomen sein könnte, sprechen Untersuchungen zur Digoxinaufnahme in Tumorzellen, die ja wenig differenziert oder spezialisiert sind:

Die Konzentrationsabhängigkeit der Digoxinaufnahmerate in Ehrlich-Aszites-Tumorzellen entspricht der Konzeption von Michaelis-Menten für die Enzymkinetik. Die Digoxinaufnahme in diese Zellen kann durch Digitoxin (und andere Steroide) sowie - wiederum - durch Spironolacton gehemmt werden (50).

Auch in HeLa-Zellen erfolgt die Digoxinaufnahme (auch Digitoxin und Ouabain)

in einem aktiven, stoffwechselabhängigen Schritt. Aufnahme und Wiederabgabe können - in noch nicht genau bekannter Art und Weise - durch chronische Zufuhr von Chloroquin, Ammoniumchlorid oder Amantadin gehemmt werden (24).

Die hier skizzierten Untersuchungsergebnisse charakterisieren die Digoxinverteilung zwischen Serum und Gewebe - rein phänomenologisch - als einen Vorgang, der, in einigen Organen mit Sicherheit, möglicherweise aber grundsätzlich durch aktive Transportprozesse wesentlich mitbestimmt wird. Es wurden jedoch auch einige theoretische Konzepte entwickelt, die die diesem Vorgang zugrundeliegenden Mechanismen auf molekularer Ebene beschreiben. Bemerkenswerterweise involvieren alle diese Konzepte die membranständige Na-K-ATPase, die ja im allgemeinen "nur" als der spezifische Rezeptor, der die Glykosidwirkung vermittelt, betrachtet wird.

Dutta et. al. (7) haben bereits 1968 ein Modell vorgeschlagen, nach dem die Na-K-ATPase als "Carrier" mit unterschiedlicher Affinität zu den einzelnen Glykosiden fungiert.

Park & Vincenzi (43) zufolge unterliegen diesem aktiven Transport durch die ATPase hauptsächlich die Glykoside, während deren Aglykone - aufgrund ihrer höheren Lipidlöslichkeit - vorwiegend durch Diffusion in die Zelle gelangen. Der aktive Transport führt zu einer intrazellulären Akkumulation der Glykoside, die diejenige der Aglykone übertreffen kann. Die Aufnahme der Glykoside, nicht jedoch die der Aglykone, kann durch Aldosteron gehemmt werden.

Aber nicht nur die Glykosidaufnahme, sondern auch deren Wiederabgabe aus der Zelle könnte, bei ausreichend hohen intrazellulären Konzentrationen, (teilweise) durch einen Transport mit der ATPase erfolgen - allerdings mit einer geringeren Rate als die Aufnahme. Dieses von Fricke & Klaus (15) entwickelte Modell scheint den von Lauterbach (39) geschilderten Befunden gut zu entsprechen.

Eine interessante Modellvariante für den Glykosidtransport mittels der Na-K-ATPase vertreten Griffiths et al. (24): Durch die Bindung an die ATPase entfalten die Glykoside zunächst, gemäß den üblichen Vorstellungen, ihre spezifische Wirkung. Im weiteren Verlauf wird dann der gesamte Glykosid-ATPase-Komplex, nach Art einer rezeptorvermittelten Endozytose, ins Zellinnere (vermutlich in Lysosome) aufgenommen. Die Schritte, die zur Wiederabgabe aus der Zelle führen, sind jedoch noch unklar (Zur Heimbarkeit des Transportes s. oben).

Die Zielsetzung dieses Kapitels war es, die Verhältnisse der Digoxinverteilung zwischen Serum und Gewebe näher zu untersuchen, um mögliche Ansatzpunkte für Einfluß von Chinidin auf diesen Vorgang ausfindig zu machen. Zusammengefaßt ergibt sich folgendes Bild:

Die Vorstellung, daß Digoxin, wie zahlreiche andere Medikamente, Zellmembranen nur durch passive Diffusion durchdringe und seine Aufnahme im Gewebe somit ausschließlich durch Diffusionsraten bzw. die Eiweißbindung bestimmt werde, ist mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit kaum vereinbar.

Es ist jedoch bekannt, daß in Leber, Darm und Niere aktive Glykosidtransportmechanismen existieren, die - unter Umständen - eine bindungsunabhängige Glykosidakkumulation im Gewebe verursachen können. Die Ergebnisse verschiedener Untersuchungen zur Glykosidaufnahme in anderen Organen oder Geweben lassen zudem die Annahme berechtigt erscheinen, daß in allen Zellen bei der Aufnahme und - unter gewissen Bedingungen und in einem geringeren Ausmaß - auch bei der Wiederabgabe der Glykoside aktive Transportmechanismen beteiligt sind. Möglicherweise stellt die membranständige Na-K-ATPase, die ja in jeder Zelle vorkommt, im allgemeinen aber nur als der die spezifische Glykosidwirkung vermittelnde Rezeptor betrachtet wird, (auch?) den für diesen Transport erforderlichen "Carrier" dar.

Gleichzeitig mit diesen aktiven Transportvorgängen dürften die Herzglykoside aber, gemäß dem Grad ihrer Lipidlöslichkeit, die Zellmembranen auch durch passive Diffusion überwinden und an verschiedene Zellstrukturen gebunden werden. In welchem Umfang allerdings die einzelnen Faktoren (Diffusionsraten, Transportraten, Bindung) die Parameter der Glykosid-, speziell der Digoxinverteilung zwischen Serum und verschiedenen Organen (Aufnahme- und Abgaberate, $V_{k_{Dig}}$) bestimmen, ist weitgehend ungeklärt.

Nichtsdestotrotz führen aber nun die Betrachtungen dieses und des letzten Kapitels zu dem Schluß, daß der gesuchte Ansatzpunkt für den Einfluß von Chinidin auf die Digoxinverteilung bei den Verteilungsraten, also entweder den Diffusions- oder den Transportraten zu suchen sein müsse. Da Änderungen der Diffusionsrate nicht in Korrelationen zwischen G/S-Werten und SDK resultieren können und - abgesehen davon - eine selektive Änderung der Membranpermeabilität für Digoxin (oder Glykoside) schwer vorstellbar ist, bleibt letztendlich nur

mehr die Annahme, daß Chinidin den aktiven Digoxintransport beeinflußt. - Das erscheint natürlich insofern nicht allzu überraschend, als ja bekannt ist, daß die aktive tubuläre Digoxinsekretion wie auch die biliäre und intestinale Digoxinausscheidung, die ebenfalls teilweise durch aktive Transportmechanismen bewerkstelligt werden, durch Chinidin gehemmt werden können.

Im nächsten Kapitel soll nun erläutert werden, daß diese Hypothese - also den Einfluß von Chinidin auf die Digoxinverteilung als Hemmung eines aktiven Digoxintransportes zu interpretieren - mit den Befunden der vorliegenden sowie anderer Arbeiten besser vereinbar ist als die "Verdrängungstheorie".

II.4. Einfluß von Chinidin auf die Digoxinverteilung als Ausdruck einer Digoxintransporthemmung

Der ungewöhnlichste und auffälligste Befund der vorliegenden Arbeit findet sich in den Korrelationen, die in der Versuchsgruppe zwischen Digoxinaufnahme (G/S-Wert) und Serum-Digoxinkonzentration bestehen (vgl. Tab.4 S.23). Soweit der offensichtlich noch unvollkommene Wissensstand zu den Vorgängen der Aufnahme, Akkumulation und Wiedergebabe von Digoxin im Gewebe (s. letztes Kap.) eine Erklärung dafür überhaupt zuläßt, scheint dieser Befund am ehesten verständlich zu werden, wenn man ihn als Ausdruck einer chinidinbedingten Transporthemmung von Digoxin betrachtet. Das sollen die folgenden Überlegungen zeigen.

Nach den Ausführungen des letzten Kapitels können die G/S-Werte im Gewebe als Resultanten von Digoxineinstrom, -bindung und -ausstrom betrachtet werden. Die Bindungsverhältnisse bleiben jedoch sehr wahrscheinlich auch unter Chinidineinfluß unverändert und konstant (vgl. Kap. E.II.2.); es wird daher im folgenden von der vereinfachten Vorstellung ausgegangen, daß die G/S-Werte nur vom Verhältnis des Einstroms zum Ausstrom bestimmt werden.

Sofern diese Ströme mittels Diffusion vor sich gehen, ist ihr Verhältnis zueinander von der Höhe der SDK unabhängig, d.h. also, die G/S-Werte sind konzentrationsunabhängig. Bei einer Verringerung der Membranpermeabilität durch Chinidin würden zwar die Diffusionsraten und damit die G/S-Werte vermindert (falls man sie nicht im Gleichgewicht bestimmt), das Verhältnis von Einstrom zu Ausstrom und die G/S-Werte blieben aber nach wie vor von Konzentrationsänderungen unberührt.

Auch wenn aktive Transportmechanismen an Ein- und Ausstrom beteiligt sind, müssen Änderungen der SDK das Verhältnis von Ein- zu Ausstrom bzw. die G/S-Werte nicht beeinflussen - solange nämlich die Transportmechanismen in ihrem Proportionalitätsbereich arbeiten (vgl. (39)).

Nun zeigt sich aber unter Chinidineinfluß in allen untersuchten Organen (außer dem Gehirn), daß das Verhältnis von Einstrom zu Ausstrom mit steigenden Konzentrationen zunimmt, die G/S-Werte werden größer. Entweder nimmt also der (relative) Einstrom zu, oder der (relative) Ausstrom ab. Da die meisten Befunde zur Chinidin-Digoxin-Wechselwirkung - auch unter Dauerapplikation - nur durch eine Verringerung der Digoxinaufnahmerate erklärbar sind (s. weiter un-

ten), scheidet wohl die erste Möglichkeit, die Verstärkung des Einstroms, aus. Demnach müßte die Zunahme der G/S-Werte durch eine Verringerung des Ausstroms zustandekommen.

Mit dieser Annahme können zwei der im letzten Kapitel beschriebenen Konzepte für den Digoxintransport in Einklang gebracht werden:

Nach den Vorstellungen von Fricke & Klaus (15) ist die Transportkapazität der ATPase in der "Einwärtsrichtung" deutlich größer als in der "Auswärtsrichtung"; der hemmende Einfluß von Chinidin auf den Transport mit der ATPase insgesamt könnte sich also auf den Auswärtstransport relativ stärker auswirken.

Dagegen vermuten Griffiths et al. (24), daß der den Digoxinausstrom aus der Zelle limitierende Prozeß nicht beim Durchtritt durch die Zellmembran (der durch Diffusion erfolgen soll), sondern irgendwo innerhalb der Zelle liegt. Seine Natur ist zwar nicht bekannt, aber er kann durch verschiedene schwache Basen, also vielleicht auch Chinidin, verzögert werden.

Was auch immer dieser die Digoxinabgabe bestimmende Schritt sein mag, es sollte jedenfalls ein Prozeß mit einer begrenzten Kapazität sein, der durch Chinidin nicht vollständig, sondern gerade soweit gehemmt wird, daß er nicht mehr in seinem Proportionalitätsbereich arbeitet. Er zeigt daher bei steigenden Konzentrationen eine zunehmende Sättigung, was zu einer Zunahme der G/S-Werte führt.

Besonders komplex scheinen die Verhältnisse der Digoxinaufnahme und -abgabe im Gehirn zu sein. Da in der vorliegenden Untersuchung die Korrelationen zwischen den G/S-Werten des Gehirns und der SDK negativ waren, könnte man annehmen, daß diese Verhältnisse hier einfach umgekehrt wie in den anderen Organen sind: Der Einwärtstransportmechanismus wird durch steigende Digoxinkonzentrationen schneller abgesättigt als der für den Auswärtstransport.

Dann fragt sich aber, wie die bereits erwähnten Befunde von Sato et al. (53) zustandekamen: 1 Stunde nach Digoxinapplikation stieg der $V_{k_{Dig}}$ um 90% an, 6 Stunden danach fand sich jedoch eine 50%ige Reduzierung (gegenüber Digoxinkontrollen).

Eine mögliche, wenn auch recht spekulative Antwort darauf ergibt sich aus folgenden Überlegungen bzw. Annahmen: Bei relativ niedriger SDK, wie in der vorliegenden Arbeit oder auch 6 Stunden nach der i.v.-Bolusgabe von Sato et al., könnte die Digoxinaufnahme durch die Blut-Hirn-Schranke vorwiegend mit einem

aktiven Mechanismus erfolgen. Dessen Transportmaximum wird jedoch bei steigender SDK rasch erreicht und dann bei hohen Digoxinkonzentrationen (z.B. 1 Stunde nach i.v.-Bolus) durch den Einstrom per Diffusion übertroffen. Wenn nun die "Ausscheidung" von Digoxin aus dem gesamten Zentralnervensystem, wie von Sato et al. (53) vorgeschlagen, zentralisiert im Plexus chorioideus durch einen aktiven Transportmechanismus mit relativ großen Transportraten vor sich geht, sollte sich der hemmende Einfluß von Chinidin bei niederen Digoxinkonzentrationen mehr auf die Aufnahme, bei hohen Konzentrationen mehr auf die Wiederabgaberate auswirken. So könnte bei hoher SDK eine Zunahme, bei niedriger eine Abnahme des $V_{k_{Dig}}$ im Gehirn entstehen.

Auf den letzten Seiten wurde hauptsächlich der Chinidineinfluß auf die Wiederabgabe von Digoxin aus dem Gewebe diskutiert. Den im vorigen Kapitel zitierten Untersuchungen zufolge sollten jedoch aktive Transportmechanismen bei der Aufnahme ins Gewebe eine größere Rolle spielen und demnach eine Hemmung des aktiven Digoxintransports sich besonders auf die Aufnahme auswirken.

Betrachtet man die Untersuchungen zur Digoxinverteilung bei begleitender Chinidinmedikation unter diesem Aspekt, so wird unmittelbar einsichtig, daß die meisten Ergebnisse (abgesehen von den oben bereits diskutierten) sich als Folge einer durch Chinidin verringerten Digoxinaufnahmerate interpretieren lassen:

In jedem Einmaldosis- oder Kurzzeitversuch - einschließlich der vorliegenden Untersuchungen mit dem Langendorffherz - werden die $V_{k_{Dig}}$ -Werte durch die chinidinbedingte Verzögerung der Digoxinaufnahme verringert. Damit ergibt sich im Gesamtorganismus natürlich auch ein kleineres Verteilungsvolumen für Digoxin.

Insofern die Höhe des $V_{k_{Dig}}$ im Verteilungsgleichgewicht hauptsächlich durch die Bindung im Gewebe bestimmt wird, sollte er jedoch unter Dauermedikation (also im angenäherten Gleichgewicht) wieder sein "ursprüngliches" Niveau erreichen können. So lassen sich die widersprüchlichen Befunde von Schenck-Gustafsson et al. (57,58) und Jogestrand et al. (27) vermutlich dadurch erklären, daß die Digoxinverteilung zum Untersuchungszeitpunkt in den ersten beiden Arbeiten (verringertes $V_{k_{Dig}}$ im Skelettmuskel nach 3 Tagen der Chinidinkoadministration) im Gegensatz zur letzten Arbeit (unveränderter $V_{k_{Dig}}$ am 14. Tag der Chinidinkoadministration) noch nicht abgeschlossen war.

Dennoch bleibt das Verteilungsvolumen für Digoxin aufgrund der verminderten Aufnahme auch unter Dauermedikation verringert (44).

Es liegt nahe, diese Gleichgewichtsbedingungen des Langzeitversuchs auch für das Fehlen signifikanter Unterschiede zwischen den mittleren G/S-Werten aus Versuchs- und Kontrollgruppe der vorliegenden Arbeit verantwortlich zu machen. Allerdings ist nicht ganz auszuschließen, daß dabei auch noch eine gewisse Kompensation der Digoxintransporthemmung eine Rolle spielt; diese Frage wird im nächsten Kapitel näher behandelt.

Unabhängig davon ist zunächst festzuhalten, daß die Annahme, Chinidin vermindere die Verteilungsraten von Digoxin, offensichtlich mit allen Befunden zur Digoxinverteilung unter Chinidinkoadministration gut vereinbar ist (was besonders auch für die Befunde gilt, die der "Verdrängungsthese" widersprechen - vgl. Kap. E.II.2.):

Die Hemmung des aktiven Digoxintransports wirkt sich (außer im Gehirn) hauptsächlich auf die Aufnahme rate aus und führt damit zu einer Verringerung des V_{Dig} und, soweit keine Gleichgewichtsbedingungen herrschen, auch des $V_{K_{Dig}}$. Die Beeinträchtigung der Wiederabgabe von Digoxin aus dem Gewebe äußert sich in der vorliegenden Untersuchung in einer Korrelation zwischen G/S-Werten und SDK, einem Befund, der sehr ungewöhnlich und anders kaum zu erklären ist.

Mit der hier vorgeschlagenen These, den Einfluß von Chinidin auf das Verteilungsvolumen von Digoxin auf eine Hemmung aktiver Transportprozesse zurückzuführen, bietet sich also eine plausible Alternative zur "Verdrängungsthese" an. Vorausgesetzt werden muß dabei, daß ein aktiver Digoxintransport in (mehr oder minder) allen Geweben stattfindet - eine Annahme, die nach den im letzten Kapitel aufgeführten Untersuchungsergebnissen durchaus einleuchtet, im einzelnen aber noch bewiesen werden müßte.

Falls sich diese These als richtig erweist, ist damit die gesamte Chinidin-Digoxin-Wechselwirkung, also die Auswirkungen von Chinidin auf das Verteilungsvolumen sowie auf die Clearance von Digoxin, vermutlich auf einen einzigen grundlegenden Mechanismus zu reduzieren - eben die Hemmung des aktiven Digoxintransports.

Das führt aber nun wieder zu der vorliegenden Arbeit zurück:

Im nächsten Kapitel wird der - offensichtlich fehlende - Einfluß von Chinidin auf Serumspiegel bzw. Clearance von Digoxin diskutiert.

II.5. Einfluß von Chinidin auf Serumkonzentration und Clearance von Digoxin

4 Stunden nach der letzten von 10 i.p.-Injektionen (Versuchsgruppe: jeweils 230 µg/kg Digoxin und 30 mg/kg Chinidin; Kontrollgruppe: Digoxin und NaCl-Lösung) fanden sich keine signifikanten Unterschiede in den Mittelwerten der SDK aus Versuchs- ($11,0 \pm 1,6$ ng/ml) und Kontrollgruppe ($12,8 \pm 1,9$ ng/ml; vgl. Kap. C.II.1. und Abb.3 S.15).

Im Gegensatz dazu hatten bisher alle am Meerschweinchen durchgeführten Untersuchungen zur Chinidin-Digoxin-Wechselwirkung (vgl. Kap. E.II.1.) eine Erhöhung der SDK unter Chinidineinfluß festgestellt, allerdings ausnahmslos nur nach Einzeldosisgabe. Inwieweit zu diesem Ergebnis im Kurzzeitversuch die Reduktion des V_{Dig} beitragen mag (vgl. die Diskussion zu diesem Thema in (13)), bleibe dahingestellt. Jedenfalls fand sich auch nach Digoxin- und Chinidineinzeldosis eine signifikante Verringerung der Digoxinclearance (53), die bei chronischer Medikation zu einem andauernden Anstieg der SDK führen sollte. Da das im vorliegenden Versuch offensichtlich nicht der Fall war, müssen die Meerschweinchen in der Lage sein, die nach Einzeldosisgabe auftretenden Einschränkungen der Digoxinclearance (Cl_{Dig}) bei wiederholter Applikation der Medikamente zu kompensieren.

Prinzipiell kommen für diese Kompensation zwei unterschiedliche Ursachen in Betracht:

Erstens eine - wie auch immer zustandekommende - Adaption der zunächst beeinträchtigten Digoxin-Ausscheidungsmechanismen an die veränderten Bedingungen. Damit würde sich das Meerschweinchen in Bezug auf die Chinidin-Digoxin-Interaktion grundsätzlich von Mensch und Hund unterscheiden, da in diesen Spezies die ex- bzw. sekretorischen Ausscheidungsmechanismen für Digoxin durch Chinidin auch unter Dauermedikation ohne adaptive Kompensationserscheinungen gehemmt werden.

Wie jedoch im letzten Kapitel dargelegt wurde, sind die in der Versuchsgruppe zwischen SDK und G/S-Werten bestehenden Korrelationen - die ja gerade für die Ausscheidungsorgane Leber und Niere hochsignifikant sind ! (vgl. Tab.4 S.23) - als Ausdruck einer nach wie vor (also auch unter Dauermedikation) vorhandenen Digoxintransporthemmung zu betrachten. Allerdings geben die verfügbaren Daten

keinen Aufschluß über das Ausmaß dieser Hemmung im Langzeitversuch; somit ist ihre partielle Aufhebung - wenngleich schwer vorstellbar - nicht ganz auszuschließen.

Wie dem auch sei, die folgenden Ausführungen werden zeigen, daß die SDK der Meerschweinchen im vorliegenden Versuch offenbar von einem Faktor abhängt, der primär dem Chinidineinfluß nicht - oder zumindest weniger - unterliegt, als die bisher angesprochenen Digoxin-Ausscheidungsmechanismen. Damit ergibt sich eine zweite Möglichkeit, das Fehlen von signifikanten Unterschieden in der Digoxinelimination und der SDK zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe zu erklären.

Im Serum der mit Chinidin und Digoxin behandelten Tiere fand sich eine enge positive Korrelation zwischen SCK und SDK (vgl. Kap. C.II.3. und Abb.5 S.17). Das scheint zunächst die Erwartung zu bestätigen, daß Chinidin - im üblichen Rahmen der Chinidin-Digoxin-Wechselwirkung - den Digoxinspiegel beeinflusst: Je höher die SCK, desto höher die SDK; die SCK ist dabei die unabhängige, die SDK die abhängige Variable einer kausalen Korrelation.

Wenn das so wäre, sollte man freilich auch signifikante Unterschiede der mittleren SDK zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe erwarten. Da solche Unterschiede offensichtlich nicht bestehen, muß eine andere Interpretation dieser Korrelation in Betracht gezogen werden: Die Serumkonzentrationen von Chinidin und Digoxin hängen nicht voneinander, sondern von einem dritten Faktor ab, der in den einzelnen Versuchstieren niedere, mittlere oder hohe Serumkonzentrationen beider Medikamente bewirkt.

Es liegt nahe, diesen unbekannten Faktor in der metabolischen Kapazität des Meerschweinchenorganismus zu suchen, da sowohl Digoxin (6,42,53) als auch Chinidin (unveröffentlichte Ergebnisse aus (55)) vom Meerschweinchen in erheblichem Ausmaß metabolisiert werden. Tatsächlich finden sich, diese Vermutung bestätigend, in Versuchs- wie Kontrollgruppe hochsignifikante negative Korrelationen zwischen dem Anteil der radioaktiven Metabolite an der Gesamtaktivität - den relativen Metabolitenmengen - und der SDK (vgl. Abb.8 S.19). Ebenso zeigt sich (natürlich nur in der Versuchsgruppe) eine enge negative Korrelation zwischen Chinidinkonzentration und Digoxinmetaboliten (vgl. Abb.7 S.19). Mit anderen Worten: Je höher die relative Metabolitenmenge im Serum - und damit wohl auch die metabolische Kapazität des Tieres - , desto niedriger die Digoxin- bzw. Chinidinkonzentration im Serum (und umgekehrt).

Die negative Korrelation zwischen SCK und Digoxinmetaboliten könnte freilich - für sich genommen - auch als Ausdruck einer durch Chinidin gehemmten Digoxinmetabolisierung betrachtet werden: Je höher die SCK, desto weniger Metabolisierung (und umgekehrt). Dieser Annahme widerspricht jedoch, daß sowohl die durchschnittlichen relativen Metabolitenmengen (s. Kap. C.II.4. S.18) wie die Korrelationen zwischen diesen relativen Metabolitenmengen und der SDK (Abb.8 S.19) mit (Versuchsgruppe) und ohne Chinidineinfluß (Kontrollgruppe) praktisch gleich sind. Das wäre aber nicht zu erwarten, wenn Chinidin die Digoxinmetabolisierung beeinträchtigte (vgl. übereinstimmende Ergebnisse und Argumentation von Pedersen et al. (45) und Schäfer et al. (54,55).

Damit ergibt sich folgende Zwischenbilanz: Die enge Korrelation von SDK und SCK im Langzeitversuch kommt nicht durch den Einfluß von Chinidin auf den Digoxinspiegel (bzw. -clearance) zustande. Vielmehr bestimmt die metabolische Kapazität des einzelnen Tieres die Höhe der Serumkonzentrationen beider Medikamente; der Digoxinabbau wird dabei durch Chinidin nicht vermindert.

Die dominierende Rolle, die nach diesen Beobachtungen und Schlußfolgerungen dem Metabolismus bei der Digoxinelimination im Meerschweinchen zukommt, wird durch die Untersuchungsergebnisse von Sato et al. (53) bestätigt: Rund 75% der Gesamtkörperclearance von Digoxin entfallen danach auf die metabolische Clearance ($Cl_{Dig\ m}$). Unter Chinidineinfluß fand diese Arbeitsgruppe allerdings eine 33%ige Abnahme der $Cl_{Dig\ m}$, die jedoch auf die verminderte Digoxinaufnahme der Leber im Kurzzeitversuch zurückzuführen sein dürfte (die Digoxinmetabolisierung findet überwiegend in der Leber statt (6)).

Bemerkenswerterweise entsprach dabei die Reduktion der $Cl_{Dig\ m}$ (- 33%) nicht derjenigen des $V_{k_{Dig}}$ in der Leber (- 80%), wie es doch in einem so engen Konzentrationsbereich zu erwarten wäre. Das erweckt den Eindruck, daß bereits im Kurzzeitversuch eine erhebliche Zunahme des Digoxinabbaus eintritt, die den hemmenden Einfluß von Chinidin auf die anderen Eliminationsmechanismen teilweise kompensieren kann, obwohl die Digoxinaufnahme der Leber stark reduziert ist. Extrapoliert auf den Langzeitversuch, in dem ja die Unterschiede im Digoxingehalt der Leber zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe aufgehoben sind, könnte diese verstärkte Digoxinmetabolisierung durchaus zu einem vollständigen Ausgleich des Chinidineinflusses führen. Dabei wäre nicht zu erwarten, daß sich das in signifikanten Unterschieden der relativen Metabolitenmengen im Se-

rum niederschlägt: Auch wenn die mehrproduzierten Metabolite vollständig im Serum erschienen - was ja sicher nicht der Fall ist - würde sogar eine 50%ige Abnahme der SDK (durch Metabolisierung) die Metabolitenkonzentration im Serum um nur knapp 4% erhöhen. - Dagegen waren die ^3H -Konzentrationen bzw. G/S-Werte der Galle unter Chinidineinfluß sichtlich, wenn auch nicht signifikant erhöht (vgl. Abb.4 S.16). Das paßt zu der Vorstellung eines verstärkten hepatischen Digoxinabbaus. Möglicherweise läßt sich auch die in der Versuchsgruppe bestehende signifikante Korrelation zwischen den Serumkonzentrationen von Digoxin und Dpm auf eine vermehrte metabolische Aktivität zurückführen (vgl. Abb.6 S.18).

Das heißt also, die vorliegenden Befunde wären gut mit der Annahme vereinbar, daß die Meerschweinchen in der Lage sind, die chinidinbedingten Einschränkungen der renalen, biliären und intestinalen Digoxinclearance durch einen verstärkten Digoxinabbau im Langzeitversuch vollständig zu kompensieren.

Wie aber soll es zu dieser vermuteten Zunahme der Metabolisierung kommen ? Zumindest theoretisch wäre denkbar, daß die im letzten Kapitel postulierte Beeinträchtigung der Wiederabgabe von Digoxin aus dem Gewebe, in diesem Falle also aus der Leber, dazu beiträgt: Unter Chinidineinfluß bleibt Digoxin der Einwirkung der metabolisierenden mikrosomalen Enzyme länger ausgesetzt und wird so verstärkt abgebaut.

Letztlich erscheint es jedoch unnötig, auf diese hypothetische Möglichkeit zurückzugreifen; es ist nämlich bekannt, daß - wenigstens im menschlichen Organismus - der Glykosidabbau Störungen der renalen Ausscheidung kompensieren kann. Das trifft wohl für Digoxin, das vom Menschen ja kaum metabolisiert wird, weniger zu. Aber die Digitoxinmetabolisierung kann bei Nierenversagen bis auf das Doppelte ansteigen (34), wobei die Gesamtelimination weitgehend unverändert bleibt. Wie dieser Kompensationsmechanismus im einzelnen zustandekommt und gesteuert wird, ist allerdings nicht bekannt.

Nichtsdestotrotz darf man wohl mit einiger Sicherheit annehmen, daß Meerschweinchen im Fall der durch Chinidin behinderten sekretorischen Digoxin-Ausscheidungsmechanismen zu einer ähnlichen, wenn nicht noch wesentlich höheren Steigerung des Digoxinabbaus fähig sein sollten. Es dürfte nicht schwierig sein, diese Annahme durch geeignete Versuche zu überprüfen.

Die Diskussionsergebnisse dieses Kapitels können folgendermaßen zusammengefaßt werden:

Meerschweinchen sind offensichtlich in der Lage, die im Kurzzeitversuch auftretenden chinidinbedingten Einschränkungen der Digoxinausscheidung unter Chinidin- und Digoxindauermedikation zu kompensieren: Im Langzeitversuch zeigen die Serumspiegel von Digoxin in Versuchs- und Kontrolltieren keine signifikanten Unterschiede.

Die zwischen SDK und SCK gefundenen Korrelationen sind wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß beide Medikamente vom Meerschweinchen hauptsächlich durch Metabolisierung aus dem Organismus eliminiert werden.

Einiges spricht für die Annahme, daß die chinidinbedingte Hemmung der sekretorischen Digoxinausscheidung in Niere, Leber und Darm auch unter Dauermedikation weiterbesteht, jedoch durch eine Zunahme des Digoxinabbaus in der Leber ausgeglichen werden kann. Die vorliegenden Ergebnisse erlauben es allerdings nicht, eine teilweise "Erholung" der zunächst durch Chinidin beeinträchtigten Digoxin-Ausscheidungsmechanismen gänzlich auszuschließen.

Abschließend soll darauf hingewiesen werden, daß die Identifizierung des hier zur Diskussion stehenden Kompensationsmechanismus von grundsätzlicher Bedeutung ist:

Nach den Ausführungen der letzten Kapitel erscheint es plausibel, die Auswirkungen von Chinidin auf die Clearance wie auch das Verteilungsvolumen von Digoxin als Folge der Hemmung eines aktiven Digoxintransports zu betrachten. Beim Menschen resultiert nun die Dauermedikation von Digoxin und Chinidin in einer anhaltenden Einschränkung der Digoxinclearance und damit einer dauerhaften Erhöhung der SDK. Diese Chinidinwirkung zeigt sich beim Meerschweinchen nur im Kurzzeitversuch, nicht mehr jedoch im Langzeitversuch.

Untersuchungen zur Chinidin-Digoxin-Wechselwirkung am "Modell Meerschweinchen", die ja letztlich relevante Aussagen über die Verhältnisse beim Menschen liefern sollen, sind aber nur dann sinnvoll und aussagekräftig, wenn keine zu großen, oder besser gesagt, keine grundsätzlichen Unterschiede bezüglich dieser Wechselwirkung in beiden Spezies bestehen. Wie bereits erwähnt, würde eine kompensatorische Anpassung der renalen, biliären und intestinalen Digoxin-Aus-

scheidungsmechanismen (und damit wohl auch der Transportmechanismen in anderen Organen) an den Chinidineinfluß einen solchen grundsätzlichen Unterschied darstellen - sie tritt beim Menschen nicht auf.

Dagegen läßt die zweite hier geschilderte Kompensationsmöglichkeit, die Zunahme der metabolischen Digoxinelimination, die primären Wirkungen von Chinidin auf die Digoxinkinetik unberührt; das Meerschweinchen erschiene damit weiterhin geeignet, die Chinidin-Digoxin-Wechselwirkung näher zu untersuchen.

F. ZUSAMMENFASSUNG

Die hier vorgelegte Untersuchung zur Chinidin-Digoxin-Wechselwirkung verfolgte zwei verschiedene Ziele:

Zum einen sollte geprüft werden, inwieweit ein wesentliches Charakteristikum dieser Wechselwirkung beim Menschen, die auch unter Dauermedikation anhaltende Erhöhung der Serumspiegel von Digoxin, gleichermaßen im Organismus des Meerschweinchens auftritt; davon hängt, jedenfalls bis zu einem gewissen Grad, die Eignung des Meerschweinchens als Versuchstier zur weiteren Erforschung der Chinidin-Digoxin-Wechselwirkung ab. Es wurden also nach chronischer Digoxin- und Chinidingabe (Versuchsgruppe) die Digoxinspiegel im Serum von Meerschweinchen gemessen und mit denen einer Kontrollgruppe (nur Digoxin) verglichen.

Zum anderen sollte die Arbeit zur Klärung der Frage beitragen, wie Chinidin das Verteilungsvolumen von Digoxin beeinflusst. Dazu wurde die Digoxinaufnahme in verschiedenen Organen der Meerschweinchen in vivo (unter chronischer Medikation) wie auch in vitro (Kurzzeitversuch am Langendorffherz) mit und ohne Chinidinkoadministration bestimmt.

Unabhängig von der Zielsetzung dieser Arbeit zeitigten die Versuche mit dem Langendorffherz einen überraschenden Nebenbefund: In den Herzen der weiblichen Versuchstiere war die Digoxinaufnahme signifikant höher, als in denen der männlichen Tiere und zwar sowohl in der Versuchs- wie auch in der Kontrollgruppe. Die vorliegenden Daten erlauben allerdings noch keine zuverlässige Beurteilung dieses Befundes und seiner klinischen Relevanz.

Die weiteren Ergebnisse dieser in-vitro-Versuche mit dem Langendorffherz stimmen mit denen zahlreicher anderer Untersuchungen überein: Im Kurzzeitversuch (90minütige Perfusion) vermindert Chinidin die Digoxinaufnahme im Gewebe (signifikant bei den weiblichen, nicht signifikant bei den männlichen Tieren).

Im Gegensatz dazu fanden sich unter Dauermedikation (in-vivo-Langzeitversuch) keinerlei signifikante Unterschiede in der Digoxinaufnahme verschiedener Organe zwischen Versuchs- und Kontrollgruppe. Ähnliche Ergebnisse für die Digoxinaufnahme im Skelettmuskel wurden nach Digoxin- und Chinidindauerapplikation beim Menschen berichtet. Diese Resultate sind nicht vereinbar mit der üblichen Annahme, daß Digoxin durch Chinidin aus seiner Gewebefixierung verdrängt werde.

Ein weiterer Befund aus dem in-vivo-Langzeitversuch ist besonders ungewöhnlich: In der Versuchsgruppe - also unter Chinidineinfluß - bestanden Korrelationen (teilweise hochsignifikant) zwischen Digoxinaufnahme im Gewebe (^3H -Verteilungskoeffizient) und Digoxinspiegel im Serum. Solche Korrelationen könnten nicht zustandekommen, wenn die Digoxinverteilung zwischen Serum und Gewebe nur durch Diffusionsraten und die Bindung im Gewebe determiniert würde. Tatsächlich lassen verschiedene Untersuchungen zur Digoxinaufnahme bzw. -wiederabgabe in bzw. aus dem Gewebe die Vermutung berechtigt erscheinen, daß diese Vorgänge grundsätzlich nicht nur durch Diffusion, sondern auch mittels aktiver Transportprozesse vor sich gehen.

In Übereinstimmung mit diesen Angaben, den Ergebnissen der vorliegenden sowie anderer Untersuchungen zur Chinidin-Digoxin-Wechselwirkung wird folgende Hypothese aufgestellt:

Die Chinidin- Digoxin-Wechselwirkung insgesamt, sowohl was den Chinidineinfluß auf das Verteilungsvolumen wie auch die Clearance von Digoxin anbelangt, ist auf eine Hemmung aktiver Digoxin-Transportmechanismen zurückzuführen. Die Digoxinaufnahme mit diesem aktiven Transport, in geringerem Ausmaß auch die Wiederabgabe aus dem Gewebe, wird durch Chinidin verzögert; daraus resultiert sowohl ein geringeres Verteilungsvolumen wie auch eine Abnahme der Elimination von Digoxin aus dem Organismus.

Die Ergebnisse bezüglich des Chinidineinflusses auf den Digoxinspiegel im Langzeitversuch stehen allerdings zunächst im Widerspruch zu dieser Hypothese: Chinidin bewirkte keine Erhöhung der Serumkonzentrationen von Digoxin, es führt also offenbar nicht zu einer dauerhaften Einschränkung der Digoxin-clearance im Organismus des Meerschweinchens. Es ist nicht auszuschließen, daß dieses Resultat durch eine Adaption der zunächst beeinträchtigten sekretorischen Digoxin-Ausscheidungsmechanismen (also vermutlich aktiver Transportmechanismen) an den Chinidineinfluß unter Dauermedikation zustandekommt. Andererseits sind jedoch die Ergebnisse des Langzeitversuchs im einzelnen sehr gut mit der Annahme vereinbar, daß Meerschweinchen, die Digoxin ja vorwiegend durch Abbau in der Leber aus dem Organismus eliminieren, die chinidinbedingte anhaltende Hemmung der renalen, biliären und intestinalen Digoxinausscheidung durch eine relativ geringfügige Zunahme des Digoxinmetabolismus ausgleichen können. Eine solche kompensatorische Zunahme des Glykosidabbaus bei Verminderung der renalen Glykosidausscheidung tritt sogar beim Menschen auf.

Letztlich muß jedoch die Frage, wie Meerschweinchen die im Kurzzeitversuch durch Chinidin hervorgerufene Verringerung der Digoxinclearance unter Dauermedikation kompensieren, durch geeignete Versuche abgeklärt werden. Vom Ausgang solcher Versuche wird abhängen, inwieweit sich das Meerschweinchen als Versuchstier zur weiteren Erforschung der Chinidin-Digoxin-Interaktion eignet.

G. LITERATURVERZEICHNIS

- (1) Arnold G., Kosche F., Miessner E., Neitzert A., Lochner W. (1968): "The importance of the perfusion pressure in the coronary arteries for the contractility and the oxygen consumption of the heart"; *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **299** 339-356
- (2) Belz G.G. & Belz G. (1979): "Bestimmung der Digitoxin-Serumkonzentration mit einem Solid-Phase Enzymimmunoassay"; *Med. Klin.* **74** 620-623
- (3) DiGregorio G.J., Piraino A.J., Ruch E.K., Basseches P.J. (1982): "Investigation of digoxin, quinidine and disopyramide interactions in rats utilizing parotid saliva, blood and other tissues"; *J. Pharm. Sci.* **71** 211-213
- (4) Doherty J.E., Straub K.D., Bisset J.K., Murphy M.L. (1980): "Digoxin-quinidine interaction: Increased digoxin brain concentration"; *Am. J. Cardiol.* **45** 453
- (5) Doherty J.E., Straub K.D., Murphy M.L., de Souza N., Bisset J.K., Kane J.J. (1980): "Digoxin-quinidine interaction. Changes in canine tissue concentration from steady state with quinidine"; *Am. J. Cardiol.* **45** 1196-1200
- (6) Dolphen R. & Lesne M. (1981): "Cardiac glycosides and their metabolites levels in plasma and heart of guinea-pigs after i.v. administration"; *Archs. Int. Pharmacodyn. Ther.* **251** 4-25
- (7) Dutta S., Goswami S., Datta D.K., Lindower J.O., Marks B.H. (1968): "The uptake and binding of six radio-labeled cardiac glycosides by guinea-pig hearts and by isolated sarcoplasmic reticulum"; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **164** 10-21
- (8) Dutta S., Goswami S., Lindower J.O., Marks B.H. (1968): "Subcellular distribution of digoxin- H^3 in isolated guinea-pig and rat hearts"; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **159** 324-334
- (9) Dutta S., Rhee H.M., Marks B.H. (1972): "Effect of metabolic inhibitors on the accumulation of digitaloids by the isolated guinea-pig heart"; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **180** 351-358
- (10) Eaton D.L. & Klaassen C.D. (1978): "Carrier-mediated transport of ouabain in isolated hepatocytes"; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **205** 480-488
- (11) Ejvinsson G. (1977): "Interaktion kinidine-digoxin"; *Läkertidningen* **74** 4392-4393
- (12) Erdmann E. & Werdan K. (1981): "Untersuchungen zur Chinidin-Digoxin- und Chinidin-Digitoxin-Interaktion"; In: Kochsiek & Rietbrock (Eds.): "Digitalistherapie bei Herzinsuffizienz" 143-146; Urban & Schwarzenberg; München, Wien, Baltimore
- (13) Fichtl B. & Doering W. (1983): "The quinidine-digoxin interaction in perspective"; *Clinical Pharmacokinetics* **8** 137-154

- (14) Forth W., Furukawa E., Rummel W. (1969): "Intestinale Resorption von Herzglykosiden in vitro und in vivo"; Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmakol. Exp. Path. **262** 53-72
- (15) Fricke U. & Klaus W. (1977): "Evidence for two different Na-dependent (^3H)-ouabain binding sites of a Na-K-ATPase of guinea-pig hearts"; Br. J. Pharmac. **61** 423-428
- (16) Ganong W.F. (1972): "Medizinische Physiologie"; Springer; Berlin, Heidelberg, New York
- (17) Geiger J.D., Das G., Parmar S.S. (1982): "Digoxin-quinidine interaction in unanesthetized guinea-pigs"; Pharmacology **25** 177-182
- (18) Geiger J.D., Parmar S.S., Brumleve S.J. (1981): "Release of digoxin as a reflection of digoxin-quinidine interaction in guinea-pig"; Fedn. Proc. **40** 631
- (19) Gibson T.P. & Nelson H.A. (1980): "Digoxin alters quinidine and quinidine alters digoxin pharmacokinetics in dogs"; J. Lab. Clin. Med. **95** 417-428
- (20) Gibson T.P. & Quintanilla (1980): "Effects of quinidine on the renal handling of digoxin"; J. Pharmacol. Exp. Ther. **215** 681-684
- (21) Godfraind T. & Lesne M. (1967): "Estimation of digitoxin uptake by isolated cardiac and smooth muscle preparation"; Archs. Int. Pharmacodyn. Ther. **166** 195-199
- (22) Godfraind T. & Lesne M. (1968): "Relative potency of digitoxin and digoxin in relation with their binding to isolated cardiac and smooth muscles"; Archs. Int. Pharmacodyn. Ther. **171** 228-230
- (23) Godfraind T. & Lesne M. (1972): "The uptake of cardiac glycosides in relation to their actions in isolated cardiac muscle"; Br. J. Pharmac. **46** 488-497
- (24) Griffiths N., Lamb J.F., Ogden P. (1983): "The effects of chloroquine and other weak bases on the accumulation and efflux of digoxin and ouabain in HeLa cells"; Br. J. Pharmacol. **79** 877-890
- (25) Harrison L.I. & Gibaldi M. (1977): "Physiologically based pharmacokinetic model for digoxin distribution and elimination in the rat"; J. Pharm. Sci. **66** 1138-1142
- (26) Dieselben im selben Band: "Physiologically based pharmacokinetic model for digoxin disposition in dogs and its preliminary application to humans"; 1679-1683
- (27) Jogestrand T., Schenck-Gustafsson K., Nordlander R., Dahlqvist R. (1984): "Quinidine-induced changes in serum and skeletal muscle digoxin concentration; evidence of saturable binding of digoxin to skeletal muscle"; Eur. J. Clin. Pharmacol. **27** 571-575
- (28) Joubert P.H. (1981): "Effects of cardiac glycosides on autonomic nervous system and endocrine glands"; In: Greeff (Ed.): "Handbook of Experimental Pharmacology" vol. **56/1**: "Cardiac Glycosides" 533-550 Springer; Berlin, Heidelberg, New York

- (29) Kaplinsky Ch., Aladjem M., Wolfish N., Laufer J., Halkin H. (1980): "Digoxin-quinidine interaction: in vitro studies in rat tissue"; J. Lab. Clin. Med. **96** 592-596
- (30) Kaufmann G. (1978): "Is there a need for new cardiac glycosides? For more blood level determinations?" In: Bodem & Dengler (Eds.): "Cardiac glycosides" 410-420; Springer, New York
- (31) Kim D.H., Akera T., Brody T.M. (1981): "Effects of quinidine on the cardiac-glycoside sensitivity of guinea-pig and rat heart"; J. Pharmacol. Exp. Ther. **217** 559-565
- (32) Dieselben (1981): "Interactions between quinidine and cardiac glycosides involving mutual binding sites in the guinea-pig"; J. Pharmacol. Exp. Ther. **218** 108-114
- (33) Dieselben im selben Band: "Tissue binding sites involved in quinidine-cardiac glycoside interactions"; 357-362
- (34) Kraupp O. (1983): "Pharmakodynamische Beeinflussung der Rhythmik, Dynamik und Durchblutung des Herzens"; In: Forth W., Henschler D., Rummel W. (Eds.): "Allgemeine Pharmakologie und Toxikologie" 192-260 Bibliographisches Institut; Mannheim, Wien, Zürich
- (35) Krebs H.A. & Henseleit K. (1932): Untersuchungen über die Harnstoffbildung in Tierkörpern"; Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. **210** 33-66
- (36) Kupferberg H.J. & Schanker L.S. (1968): "Biliary secretion of ouabain-³H and its uptake by liver slices in the rat"; Am. J. Physiol **214** 1048-1053
- (37) Kuschinsky K., Lahrtz H., Lüllmann H., van Zwieten P.A. (1967): "Accumulation and release of ³H-digoxin by guinea-pig heart muscle"; Br. J. Pharmac. Chemoth. **30** 317-328
- (38) Langendorff O. (1895): "Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen"; Pflügers Arch. ges. Physiol. **61** 291-332
- (39) Lauterbach F. (1981): "Intestinal absorption and secretion of cardiac glycosides"; In: Greeff K. (Ed.): "Handbook of Experimental Pharmacology" vol. **56/II**: "Cardiac Glycosides" 105-139; Springer; Berlin, Heidelberg, New York
- (40) Leahey Jr. E.B., Carson J.A., Bigger Jr. J.T., Butler Jr. V.P. (1979): "Reduced renal clearance of digoxin during chronic quinidine administration"; Circulation **59/60** Supp.II 16
- (41) Leahey Jr. E.B., Hougén T.J., Bigger Jr. J.T., Smith T.W. (1980): "Effect of quinidine on digoxin-inhibited monovalent cation active transport"; Circulation **62** Supp.III 258
- (42) Marzo A. & Ghirardi P. (1977): "Biliary and urinary excretion of five cardiac glycosides and its correlation with their physical and chemical properties"; Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. Exp. Path. **298** 51-56
- (43) Park M.K. & Vincenzi F.F. (1975): "Rate of onset of cardiotonic steroid-induced inotropism: influence of temperatur and beat intervall";

J. Pharmacol. Exp. Ther. **195** 140-150

- (44) Pedersen K.E., Christiansen B.D., Klitgaard N.A., Nielsen-Kudsk F. (1983): "Changes in steady state digoxin pharmacokinetics during quinidine therapy in cardiac patients. Influence of plasma quinidine concentration"; *Acta Pharmacol. et Toxicol.* **52** 357-363
- (45) Dieselben (1983): "Effect of quinidine on digoxin bioavailability"; *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **24** 41-47
- (46) Pfeifer S., Pfliegel P., Borchert H.H. (1984): "Grundlagen der Biopharmazie"; Verlag Chemie; Weinheim
- (47) Reichel H. (1976): "The effect of isolation on myocardial properties"; *Basic Res. Cardiol.* **71** 1-16
- (48) Risler T., Peters U., Grabensee B., Seipel L. (1979): "Untersuchungen zur Interaktion von Chinidin und Digoxin beim Menschen"; *Dtsch. Med. Wschr.* **43** 1523-1526
- (49) Rougeot C., Jozefczak C., Mestre M., Le Fur G., Uzan A. (1984): "PK 10139 and quinidine: interactions with digoxin concentrations in rats and dogs"; *J. Pharm. Pharmacol.* **36** 347-349
- (50) Ruiz-Torres A. & Hústén J. (1971): "Zum Problem der Digoxinaufnahme in der Zelle"; *Arzneim. Forsch. (Drug Res.)* **6** 892-894
- (51) Russel J.Q. & Klaassen C.D. (1972): "Species variation in the biliary excretion of ouabain"; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **183** 513-519
- (52) Sachs L. (1974): "Angewandte Statistik"; Springer; Berlin, Heidelberg, New York
- (53) Sato J., Sawada Y., Iga T., Hanano M. (1983): "Effect of quinidine on digoxin distribution and elimination in guinea-pigs"; *J. Pharm. Sci.* **72** 1137-1141
- (54) Schäfer S.G., Fichtl B., Doering W. (1984): "Effect of quinidine on the intestinal secretion of digoxin in guinea-pigs"; *Biopharmaceutics & Drug Disposition* **5** 163-168
- (55) Schäfer S.G., Schuhmann G., Doering W., Fichtl B. (1985): "Influence of quinidine on the intestinal secretion of digoxin and digitoxin in guinea-pigs"; *Chem. Biol. Interact.* **55** 203-213
- (56) Schenck-Gustafsson K. & Dahlqvist R. (1981): "Pharmacokinetics of digoxin in patients subjected to the quinidine-digoxin interaction"; *Brit. J. Clin. Pharmacol.* **11** 181-186
- (57) Schenck-Gustafsson K., Jogestrand T., Brodin L.A., Nordlander R., Dahlqvist R. (1983): "Cardiac effects of treatment with quinidine and digoxin, alone and in combination"; *Am. J. Cardiol.* **51** 777-782
- (58) Schenck-Gustafsson K., Jogestrand T., Nordlander R., Dahlqvist R. (1981): "Effect of quinidine on digoxin concentration in skeletal-muscle and serum in patients with atrial fibrillation"; *N. Engl. J. Med.* **305** 209-211
- (59) Schenck-Gustafsson K., Juhlin-Dannfelt A., Dahlqvist R. (1982):

- "Renal function and digoxin clearance during quinidine treatment"; Clin. Physiol. 2 401-408
- (60) Schwenk M., Wiedmann Th., Remmer H. (1981): "Uptake, accumulation and release of ouabain by isolated rat hepatocytes"; Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmacol. Exp. Ther. 316 340-344
- (61) Somberg J.C., Knox S., Miura D.S. (1980): "Quinidine-digitalis interaction: Effect on cardiac purkinje fibers and myocardium"; Circulation 62 Supp.III 257
- (62) Steiness E. (1974): "Renal tubular secretion of digoxin"; Circulation 50 103-107
- (63) Stephen P.M., Dutta S., Marks B.H. (1976): "The uptake and subcellular distribution of radio-labeled metabolites of digoxin in the isolated perfused guinea-pig heart"; Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmacol. Exp. Path. 292 251-254
- (64) Ueda C.T., Hirschfeld D.S., Scheinmann M.M., Rowland M. Williamson B.J., Dzindzio B.S. (1976): "Disposition kinetics of quinidine"; Clin. Pharmacol. Ther. 19 30-36
- (65) Werdan K. (1984): "Herzglykosid-Rezeptoren der intakten Herzmuskelzelle - Eigenschaften und deren experimentelle Beeinflussung"; Habilitationsschrift; Ludwig-Maximilians-Universität, München
- (66) Wilkerson R.D., Mockridge P.B., Massing G.K. (1980): "Effects of selected drugs on serum digoxin concentration in dogs"; Am. J. Cardiol 45 1201-1210

DANKSAGUNG

Herrn Priv. Doz. Dr. Burckhard Fichtl danke ich für die Überlassung des Themas, die fortlaufende Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit, sowie für die anregende und lehrreiche Diskussion während der Abfassung meiner Dissertation.

Für Rat und Beistand in labortechnischen Fragen danke ich Frau Ulrike Schwaiger, Frau Annegret Landrock, Herrn Prof. Dr. J. Remien und Herrn Priv. Doz. Dr. W. Doering.

Ein besonderer Dank gilt meinen Eltern für die seelische und finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

LEBENS LAUF

Geboren 30.8.50 in München

- Eltern: Dr. med. Elisabeth Hofmann
Dipl. Ing. Architekt Ludwig Hofmann
- 1956 - 1961 Volksschule in München-Solln
- 1961 - 1970 Wittelsbacher Gymnasium (Humanistischer Zweig) in München; Abitur
- 1971 - 1976 Studium der Humanmedizin an der L. M. Universität in München; Staatsexamen Dezember 1976
- 1977 chirurgische Medizinalassistentenzeit in der Chirurgischen Privatklinik Bogenhausen
- 1978 - 1980 restliche Medizinalassistentenzeit und Tätigkeit als Stationsarzt (Innere Abteilung) in der Krankenanstalt Dr. H. May in Kreuth
- 1981 - 1984 wissenschaftliche Tätigkeit (u. a. Promotionsarbeit) am Pharmakologischen Institut der Universität München, zeitweise Anstellung als vollbeschäftigte wissenschaftliche Hilfskraft
- 1985 Wiederaufnahme der praktischen ärztlichen Tätigkeit in der Kurklinik Kronprinz in Prien am Chiemsee

